



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ANÁLISIS DE LA RECOMBINACIÓN GÉNICA
EN LOS SISTEMAS BIOLÓGICOS.
RECOMBINACIÓN MITÓTICA Y CÁNCER.

SEMINARIO DE TITULACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A :

JOAQUÍN VILLANUEVA CERVANTES

TUTORA

DRA. PATRICIA RAMOS MORALES



2008



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

"Análisis de la recombinación génica en los sistemas biológicos. Recombinación mitótica y cáncer".

realizado por Villanueva Cervantes Joaquín con número de cuenta 0-9035791-2 quien ha decidido titularse mediante la opción de **seminario de titulación** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte

Propietario Dra. Regina Dorinda Montero Montoya

Propietario Dra. Patricia Ramos Morales
Tutor

Suplente Dra. Erika Patricia Rendón Huerta

Suplente Dr. Arturo Piña Calva

Atentamente,

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU ”

Ciudad Universitaria, D. F., a 05 de agosto de 2008

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

DR. ZENÓN CANO SANTANA

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

DEDICATORIA

A mis padres, a quienes les debo todo lo que soy. Para ellos con todo mi cariño, admiración y respeto dedico este trabajo, para quienes les expreso mi agradecimiento y reconocimiento por su valioso e incondicional apoyo y orientación en todo momento y ámbito de mi vida, así como por su infinita paciencia y comprensión.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Patricia Ramos Morales su tutoría, guía y revisión durante el proceso de elaboración de este trabajo hasta mi titulación. Así como su paciencia, confianza en mi persona y trabajo.

Deseo también agradecerles a los siguientes miembros de mi jurado, su revisión oportuna, observaciones y valiosos comentarios a mi trabajo.

Dra. Patricia Ramos Morales

Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte

Dra. Regina Dorinda Montero Montoya

Dra. Erika Patria Rendón Huerta

Dr. Arturo Piña Calva

Agradezco a mis compañeros y miembros del Laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental de la Facultad de Ciencias de la UNAM, así como a todas aquellas personas y amistades que de una u otra manera me apoyaron con sus observaciones, comentarios y sugerencias para la mejora de mi trabajo y presentación del mismo, durante el proceso de mi titulación.

Deseo agradecer a la UNAM, la maravillosa oportunidad de mi formación profesional, de estudiar y aprender en ésta magnífica, generosa y maravillosa institución a la que le tengo un especial gran cariño, admiración y respeto. La UNAM me ha brindado muchas luces más allá de lo académico, enriqueciéndome y aprendiendo mucho de la gran calidad de personas, profesores, académicos y profesionales de todas las disciplinas que aquí trabajan. Institución en la cual he conocido y hecho buenos amigos. La Universidad me ha hecho crecer no únicamente como universitario, sino también como profesionista, como mexicano y sobre todo como ser humano al otorgarme una mayor conciencia de la realidad en la sociedad en que vivimos. Estoy agradecido a ésta, mi casa de estudios, por permitirme aprovechar de la mejor manera posible sus magníficas instalaciones, salones, laboratorios, escuelas, bibliotecas, centros de investigación, de información, de cómputo, recintos y actividades culturales, etc. Finalmente es para mi motivo de honor, orgullo, privilegio, reconocimiento y gran placer pertenecer a UNAM, como uno más de sus estudiantes y egresados de la mejor universidad pública mexicana y una entre las mejores y más prestigiosas universidades del mundo.

PENSAMIENTOS

“Cuando me encamino a mi mismo y mis métodos de pensamiento,
llego a la conclusión de que el don de la fantasía,
ha significado más para mí,
que mi talento para absorber conocimiento”

Albert Einstein

“La imaginación lo es todo,
es una visión anticipada
de las atracciones de vida que vendrán”

Albert Einstein

“Cualquier cosa que la mente del hombre pueda concebir,
también la puede alcanzar”

W. Clement Stone

“Educar es dar al cuerpo, a la mente y al alma
toda la belleza y perfección
de que somos capaces”

Platón

¿Cuál es el precio por tu felicidad ?

Amor en tus sentimientos,
justicia en tus actos,
inteligencia en tus empresas,
tacto en tus relaciones,
servicio a tus semejantes,
Dios en tu alma y férrea disciplina en ti,
Sólo eso te pide la vida, en premio por tu felicidad.

Tácito

RESUMEN

El presente trabajo, es una revisión bibliográfica de algunos de los más importantes **mecanismos de recombinación** y aunque no de manera exclusiva, éste se enfocó principalmente en el estudio de estos procesos en eucariontes.

Para ello, se plantearon los siguientes objetivos 1: analizar documentalmente las características de la recombinación como mecanismo de reparación del daño al ADN y su asociación con el desarrollo de cáncer. 2: integrar la información para establecer diferencias y semejanzas de la recombinación como proceso de cambio y como mecanismo de conservación de la información genética.

Durante el desarrollo de este documento se realizó una revisión, mencionando los temas y poniendo los elementos necesarios, que permiten llegar a la discusión de este trabajo, revisando, analizando y cuestionando algunos aspectos de la recombinación, como las condiciones del grado de condensación del ADN, el momento del ciclo celular en que sucede ésta y la función y participación de estructuras como el Complejo Sinaptonémico en la recombinación meiótica en eucariontes.

Se revisó la importancia de los **mecanismos de reparación** en los daños en el ADN como mecanismo para detectar, arreglar, disminuir y conservar íntegro al material genético. Uno de los mecanismos de reparación es la **recombinación**, que por medio del **entrecruzamiento**, hay corte, rompimiento y nueva unión entre moléculas de ADN, permitiendo el intercambio y formación de nuevas combinaciones genéticas en los genomas de organismos procariontes y eucariontes, dando lugar así a la recombinación. Por lo tanto, la **recombinación** es un fenómeno que contribuye a la posibilidad de generar variabilidad, siendo al mismo tiempo parte de uno de los mecanismos de reparación de daños al ADN, contribuyendo al proceso de conservación del material genético en todos los seres vivos.

El cáncer está relacionado con la acumulación de una serie de mutaciones resultado de fallas en la eficiencia de los sistemas de reparación del ADN entre los cuales esta la recombinación. Particularmente cuando, como resultado de alguno de estos mecanismos, se pierde o modifica la secuencia y el orden de genes relacionados y regulados entre sí, debido en algunos casos a inadecuados rearrreglos genéticos y cromosómicos. Además, cuando llega a haber pérdida o mutaciones en genes reguladores o segmentos de éstos, o en genes supresores de tumores, cuya función es detener o inhibir la división celular, o en los protooncogenes, que promueven la división celular. Al mutar algunos de estos genes, particularmente estos últimos y convertirse en oncogenes, quedan permanentemente activos, y entonces se da una división celular permanente, alterando los mecanismos de regulación, división, puntos de control y regulación del ciclo celular. Así, al estarse dividiendo de manera continua sin control ni regulación, aunado a la propiedad de que estas células tengan la capacidad de viajar a través del torrente sanguíneo e invadir a otros tejidos del organismo (metástasis), estamos hablando de características típicas que definen la aparición y desarrollo de procesos cancerosos.

Finalmente, es importante el continuar estudiando para tener una mejor y mayor comprensión sobre los **mecanismos de recombinación**, tanto como **proceso de cambio que puede generar variabilidad** al producir nuevos arreglos genéticos, pero sobre todo, como **proceso de reparación de daño al ADN** y por ende, como **evento de conservación de la integridad del material genético**. Todo ello, como parte de los importantes procesos genéticos que se llevan a cabo normalmente en la biología celular en todos los seres vivos.

ÍNDICE

Resumen.....	I
Índice.....	II
1 Justificación.....	1
2 Objetivos.....	1
3 Descripción del tema.....	1
4 Importancia de este trabajo.....	2
5 Introducción.....	3 - 4
6 Marco teórico.....	5 - 107
6.1 Capítulo I Características del ácido desoxirribonucleico (ADN) y condensación del ADN.....	5 - 17
6.2 Capítulo II Ciclo celular (mitosis y meiosis)	18 - 32
6.3 Capítulo III Daños al ADN (mutaciones)	33 - 41
6.4 Capítulo IV Mecanismos de reparación del ADN.....	42 - 54
6.5 Capítulo V Recombinación.....	55 - 88
6.6 Capítulo VI El cáncer.....	89 - 107
7 Discusión general.....	108 - 117
8 Conclusiones.....	118
9 Bibliografía consultada.....	119 - 122

1 JUSTIFICACIÓN

La recombinación como parte de los mecanismos de reparación del daño al ADN es fundamental para el mantenimiento de la información genética. La recombinación en las células somáticas se asocia con la reparación de lesiones al material genético y, de manera indirecta con el inicio de procesos cancerosos. Por lo anterior, es fundamental profundizar en las semejanzas, diferencias e implicaciones de la recombinación como mecanismo que contribuye a la variabilidad y como proceso de reparación del daño al ADN.

2 OBJETIVOS

a) Analizar documentalmente las características de la recombinación como mecanismo de reparación del daño al ADN y su asociación con el desarrollo de cáncer.

b) Integrar la información para establecer diferencias y semejanzas de la recombinación como proceso de cambio y como mecanismo de conservación de la información genética.

3 DESCRIPCIÓN DEL TEMA

La recombinación se ha estudiado como uno de los mecanismos que proporciona variabilidad a los seres vivos, al ser uno de los eventos de reparación de daños al ADN, además se ha establecido una asociación entre recombinación y cáncer. La recombinación mitótica, descrita en el primer tercio del siglo pasado establece la existencia de intercambio genético en las células somáticas mediante recombinación; aunque ésta fue descrita como un evento regular en pocos organismos, desde entonces se han documentado evidencias de que ocurre en múltiples organismos.

4 IMPORTANCIA DE ESTE TRABAJO

La recombinación como un mecanismo de conservación y como elemento primordial de mecanismos de reparación de la información genética tiene una gran relevancia en la sobrevivencia, tanto a nivel celular como del organismo y al mismo tiempo la recombinación homóloga es un mecanismo que proporciona variabilidad a los seres vivos. El estudio de organismos deficientes en reparación del daño al ADN, a través del estudio de sus mecanismos de recombinación, han aportado elementos que asocian a este evento con el desarrollo de cáncer.

La relevancia de estos temas en relación con la práctica profesional, es la comprensión de estos importantes fenómenos genéticos en la biología celular de los seres vivos, como parte de los mecanismos de conservación y procesos de cambio, que permanentemente se llevan a cabo en el material genético de todos los organismos, y que forman parte de su ciclo de vida, supervivencia, variabilidad y evolución en el tiempo.

5 INTRODUCCIÓN

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es el material genético que se encuentra en el interior de las células de todos los seres vivos y de algunos virus.

El ADN almacena, duplica, transporta información y es susceptible de ser modificado. Una célula se reproduce mediante una serie ordenada de eventos en que duplica su ADN y demás contenido celular y posteriormente se divide en dos nuevas células. A este continuo ciclo de duplicación y división celular se le conoce como **ciclo celular**.

El ciclo celular se compone de cuatro etapas principales: fase de multiplicación y división celular o mitosis fase (M) y otras tres (G_1 , S y G_2) que en su conjunto comprenden la interfase o período entre una fase (M) de división celular y la siguiente. En la mitosis se lleva a cabo la división nuclear que es seguida por la división celular para producir 2 nuevas células hijas, idénticas genéticamente a la célula parental que les dio origen.

El otro tipo de división celular es la meiosis, que se lleva a cabo en las células germinales de un organismo. La meiosis es el tipo de división celular nuclear mediante la cual una célula germinal con dos dotaciones equivalentes de cromosomas homólogos ($2n$), se divide dos veces para dar cuatro productos meióticos, cada uno de los cuales contiene una sola dotación de cromosomas (n). De estos 4 productos meióticos, todos son genéticamente diferentes entre sí y de las células parentales que les dieron origen.

El ADN es susceptible de tener cambios que pueden llegar a ser permanentes, conocidos como **mutaciones**. Las mutaciones pueden ser espontáneas, generalmente como resultado de errores efectuados en el proceso de duplicación del ADN y/o mutaciones inducidas causadas por distintos tipos de agentes mutagénicos que pueden ser físicos, químicos o biológicos.

Las células tienen una serie de mecanismos para eliminar, o en su caso corregir los errores y reducir el número de mutaciones que pueda llegar a tener el ADN. A estos procesos se les conoce como mecanismos de reparación del ADN.

Algunos de los mecanismos de reparación utilizan la maquinaria celular que participa en la recombinación, es decir, cortes, rompimientos y nuevas uniones entre moléculas de ADN, procesos por los que segmentos de cadenas de ADN dañado pueden ser reparados con base en la otra cadena que tenga la misma polaridad, lo cual puede conducir a nuevos arreglos del material genético a nivel individual. Este tipo de reparación se presenta en todo tipo de células.

Las mutaciones en el ADN y sus mecanismos de reparación y recombinación pueden llegar a modificar a ciertos genes, el orden de las secuencias de los mismos o de ciertos segmentos del ADN. Como resultado de esos cambios, genes o regiones en el ADN originalmente relacionados y regulados entre sí, pueden quedar fuera de control. Este tipo de alteraciones se ha asociado con algunos procesos cancerosos.

El cáncer es una enfermedad que afecta al ADN y a todo tipo de células, como consecuencia de la acumulación de múltiples tipos de mutaciones con el paso del tiempo, debido también al incorrecto funcionamiento de los mecanismos de reparación del ADN y a fallas en los puntos de control y regulación del ciclo celular.

Las células cancerosas tienen dos importantes características: una anormal y continua división celular no controlada y la otra, la capacidad de algunas de estas células de extenderse, viajar, e invadir a otros tejidos por medio del torrente sanguíneo, propiedad conocida como metástasis.

En este trabajo se hace una revisión bibliográfica poniendo los temas y elementos necesarios que permiten llegar a la discusión y análisis de algunos de los aspectos de la recombinación como mecanismo que puede generar variabilidad al producir nuevos arreglos genéticos y sobre todo como un mecanismo de reparación de daño al ADN y por ende como proceso de conservación en la integridad del material genético. Aunque no de manera exclusiva, este trabajo se enfocó principalmente en el estudio de estos procesos en eucariontes.

6 MARCO TEÓRICO

6.1 CAPÍTULO I

CARACTERÍSTICAS DEL ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO (ADN) Y CONDENSACIÓN DEL ADN.

ADN y Cromosomas

Entre otros factores la sobrevivencia de un ser vivo depende de la capacidad de sus células para conservar y expresar su material genético. Esta información hereditaria se transfiere de una célula a sus células hijas y de una generación de organismos a la siguiente. Estas instrucciones se almacenan en los genes, los cuales son los elementos que contienen la información que determina las características de una especie.

Los genes determinan las características genéticas, así como la manera en que los cromosomas se transmiten a los individuos descendientes (de una generación a la siguiente) a través de los gametos o células sexuales. La información genética está codificada en el ácido desoxirribonucleico ADN (o por sus siglas en inglés DNA), en el cual la secuencia de bases contiene las instrucciones hereditarias de la célula que se codificarán principalmente para la formación de proteínas (Alberts *et al*, 2006; Klug y Cummings, 1999).

Los nucleótidos son las piezas que forman a los ácidos nucleicos (ADN y ARN)

Los nucleótidos son las piezas que forman todas las moléculas del ácido nucleico. Estas unidades estructurales constan de tres componentes esenciales: una base nitrogenada, un azúcar ribosa o desoxirribosa y un grupo fosfato. Hay dos tipos de bases nitrogenadas: las **purinas** y las **pirimidinas**. En los ácidos nucleicos se encuentran generalmente dos tipos de purinas: adenina (A) y guanina (G) y tres tipos de pirimidinas, citosina (C), timina (T) y uracilo (U).

El nombre de ácidos nucleicos viene dado por el azúcar que presentan. Los ácidos nucleicos ribonucleicos (ARN) contienen **ribosa**, mientras que los ácidos nucleicos desoxirribonucleicos (ADN) contienen **desoxirribosa** (Klug y Cummings, 1999).

Una molécula de ADN consiste en dos cadenas complementarias de nucleótidos.

Cada molécula de ADN está compuesta por cuatro tipos de bases. Las bases están unidas a través de los azúcares y fosfatos, que por lo tanto forman un “esqueleto” fosfato-azúcar-base-base-azúcar-fosfato, dispuestos alternativamente, una encima de otra.

Las dos cadenas de polinucleótidos en la doble hélice de ADN se mantienen unidas por medio de enlaces de hidrógeno entre sus bases. El gran número de este tipo de enlaces químicos débiles entre las cadenas complementarias, hace a la doble cadena muy estable en condiciones fisiológicas. Todas las bases están en consecuencia en el interior de la hélice y el esqueleto azúcar-fosfato en el lado externo del ADN. Sin embargo, las bases no se aparean al azar: una A se aparea o une con T y una G con una C. En cada caso, una base de dos anillos (**purina**) se une o aparea con una base de un solo anillo (**una pirimidina**). Este apareamiento o unión de bases complementarias permite a las bases colocarse en la disposición energéticamente más favorable en el interior de la doble hélice del ADN (Avers, 1991).

En esta disposición, cada par de bases presenta un tamaño similar y mantiene de este modo el esqueleto azúcar-fosfato a una distancia semejante a todo lo largo de la molécula de ADN. Los dos esqueletos de azúcar-fosfato se enrollan entre sí para formar una doble hélice que contiene 10 pares de bases por giro de la hélice de ADN. Los miembros de cada par de bases pueden unirse entre sí dentro de la doble hélice de ADN si las dos cadenas son antiparalelas. Una consecuencia de estas características de apareamiento de bases es que cada cadena de una molécula de ADN contiene una secuencia de nucleótidos que es complementaria de la secuencia de nucleótidos de la otra cadena (Alberts *et al*, 2006).

Características más importantes del modelo de la estructura del ADN

El ADN tiene varias propiedades importantes: 1) **almacena la información genética** donde se especifican las características de las células de los seres vivos; 2) **el ADN tiene la capacidad de duplicarse**, 3) **es susceptible de tener cambios o mutaciones.**

La mutación, es decir la aparición de cambios súbitos, heredables en las propiedades de una célula u organismo, con frecuencia implica un cambio en la secuencia de bases del ADN que puede efectuarse de forma espontánea o ser provocado por mutágenos o agentes físicos, químicos o biológicos. A menos que el cambio sea detectado y corregido mediante algunos de los mecanismos de reparación, dichos cambios se podrán propagar de la misma manera en las siguientes generaciones. 4) La información genética se almacena en forma codificada en el ADN y se transfiere por medio de las copias del ARN mensajero producidas en la transcripción. Después estos ARN mensajeros transcritos guiarán la síntesis de las proteínas codificadas durante la traducción en los ribosomas (Avers, 1991).

En 1953, James Watson y Francis Crick propusieron un modelo para la estructura del ADN (Watson y Crick, 1953). Este modelo tiene las siguientes características (figura 1):

- Dos cadenas de ADN antiparalelas (5' frente a 3') de polinucleótidos están enrolladas alrededor de un eje central, formando una doble hélice enrollada hacia la derecha.
- Las bases de las dos cadenas forman estructuras planas y perpendiculares al eje; están puestas una sobre otras, separadas entre sí por 3.4 \AA (0.34 nm), y se encuentran en el interior de la estructura (figura 1)
- Las bases nitrogenadas de las dos cadenas complementarias están apareadas o unidas entre sí por medio de puentes de hidrógeno. En el ADN los emparejamientos o uniones entre bases son A-T y G-C.
- Cada vuelta completa de la hélice del ADN contiene 10 pares de bases y tiene una longitud de 34 \AA (3.4 nm).
- En cualquier segmento de la molécula del ADN, se observan un surco mayor y un surco menor alternados a lo largo del eje del ADN.
- La doble hélice mide 20 \AA (2.0 nm) de diámetro (Watson y Crick, 1953; Klug y Cummings, 1999).

Durante la duplicación, las cadenas se separan y cada una de ellas sirve de molde para que se sintetice la cadena complementaria (Peña *et al*, 1990).

En el artículo publicado en 1953 por Watson y Crick, sugirieron un posible mecanismo de copia para el material genético. Dos meses más tarde en un segundo artículo estos autores sugirieron un modelo específico de duplicación del ADN: el modelo semiconservativo. En este segundo artículo los autores mencionaron dos nuevos conceptos: el almacenamiento de la información genética en la secuencia de bases, y la mutación o cambio genético que resultaría de la alteración de las bases. Estas ideas han recibido respaldo experimental desde 1953, y en la actualidad son aceptadas mundialmente (Watson y Crick, 1953; Klug y Cummings, 1999).

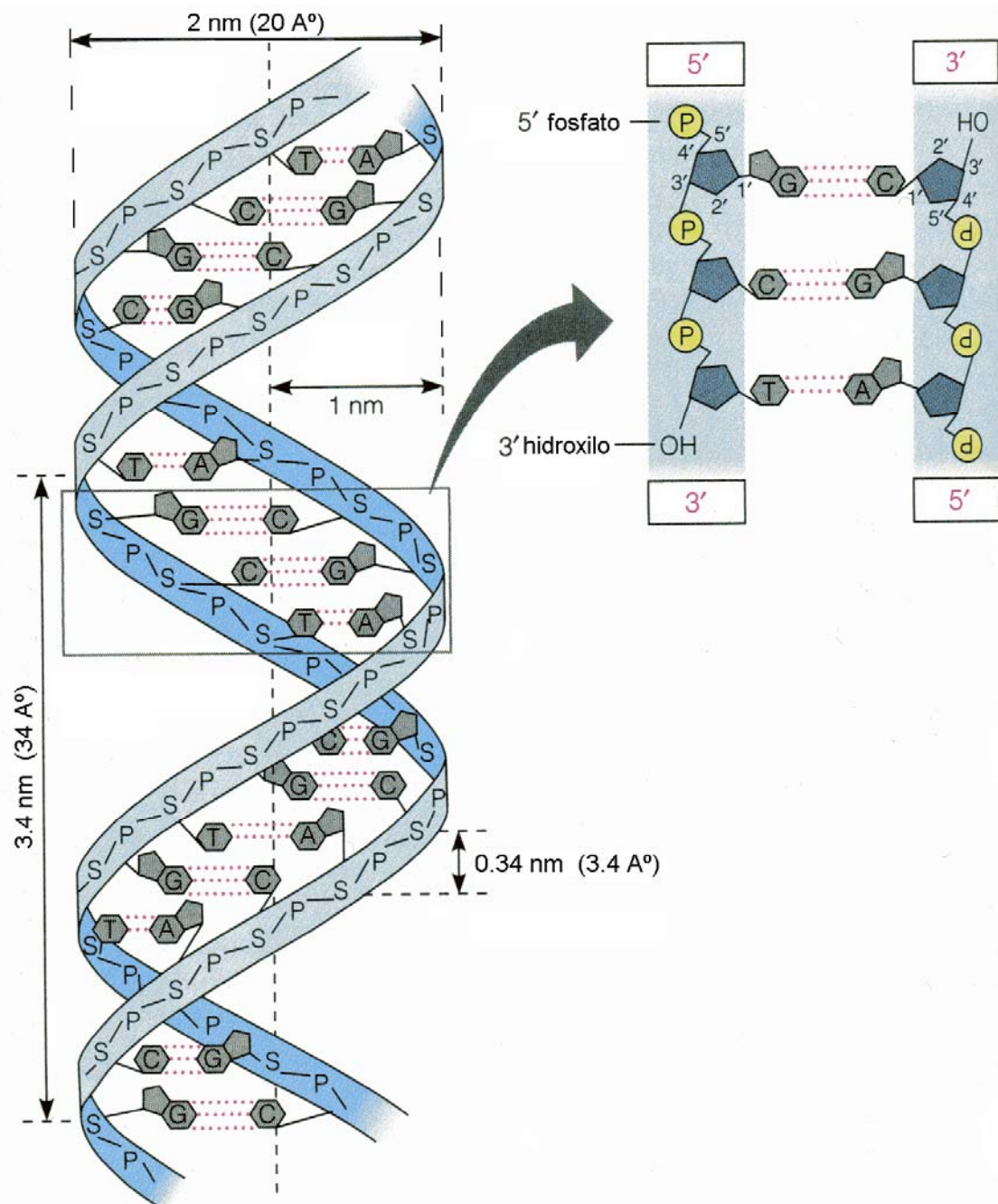


Figura 1 Características y componentes de la estructura del ADN (imagen de Snustad *et al*, 1997).

Teoría cromosómica de la herencia

Hacia 1910, la correlación entre el trabajo de Mendel y el comportamiento de los cromosomas en la meiosis proporcionó las bases para la teoría cromosómica de la herencia, tal como lo postularon Walter Sutton y Theodor Boveri en 1902 (Klug y Cummings, 1999).

Un avance importante en el desarrollo de la Genética fue la noción de que los genes, tal como habían sido definidos por Mendel, quien los llamara “factores hereditarios”, forman parte y están en los cromosomas. Este concepto simple pero importante llegó a ser conocido como la **teoría cromosómica de la herencia** en la que se dedicó gran esfuerzo al estudio de las relaciones entre los genes y los cromosomas. De acuerdo con esta teoría los genes están localizados en los cromosomas (Griffiths *et al*, 2002).

Las bases de la teoría cromosómica de la herencia se enuncian en los siguientes cuatro puntos:

1.- En las células somáticas surgidas de un huevo fecundado o cigoto, los cromosomas provienen de dos orígenes, uno materno y otro paterno. Cada núcleo somático contiene pares de cromosomas semejantes (homólogos), siendo el número de pares igual al número haploide de un gameto. Por consiguiente, al igual que los factores mendelianos, los cromosomas están representados dos veces en las células somáticas de los organismos y una sola vez en los gametos (Puertas, 1991).

2.- Los cromosomas mantienen su individualidad estructural y su continuidad a través de todo el ciclo de vida de un organismo, de igual manera los factores mendelianos mantienen su individualidad y continuidad, aun en los casos en que los caracteres que determinen no se expresen.

Los cromosomas son el vehículo con entidad física por el cual los factores hereditarios se continúan de generación en generación celular e individual.

3.- En la meiosis, tras el apareamiento de los cromosomas homólogos, se produce su segregación o separación en células diferentes. La segregación de los cromosomas

establece el mecanismo citológico tanto para la segregación de los factores mendelianos, como para su combinación independiente.

La segregación de los cromosomas aportan la base física de la segregación o separación de los factores hereditarios y su combinación independiente, como proponen las reglas mendelianas.

4.- En el último punto de la teoría cromosómica de la herencia se comprobó que las alteraciones en el número o la estructura de los cromosomas, iban acompañadas de aberraciones en el desarrollo de los individuos. De estos resultados se concluyó que cada cromosoma o par de cromosomas homólogos tienen un papel específico en el desarrollo de los individuos (Puertas, 1991).

Lo anterior significa que si los genes determinan caracteres biológicos y los genes están en los cromosomas, la falta o la alteración de algún cromosoma provocará aberraciones en el desarrollo de los organismos o en la expresión de sus caracteres hereditarios.

El número de genes debía ser mucho mayor que el número de cromosomas, por tanto, debía haber varios genes situados en un mismo cromosoma. Los genes situados en el mismo cromosoma han de tener un comportamiento diferente en su segregación y combinación que los genes situados en distinto cromosoma, puesto que, obviamente, los genes localizados en distintos cromosomas pueden combinarse independientemente al segregar al azar, mientras que los que están situados en el mismo cromosoma no pueden hacerlo, puesto que segregan juntos.

En resumen, en cada generación de formación de células sexuales se producen nuevas combinaciones de genes mediante dos procesos diferentes: los genes situados en diferentes cromosomas se segregan al azar y los genes ligados se recombinan por medio del entrecruzamiento (Puertas, 1991).

Organización genómica del ADN y su proceso de condensación o compactación

El material genético adopta diferentes estados durante el ciclo celular.

Un gen se define en general como un segmento de ADN que contiene las instrucciones para producir un producto específico. Aunque esta definición es válida para la mayor parte de los genes, algunos dirigen la producción de una molécula de ARN, en lugar de una proteína como su producto final (Alberts *et al*, 2006).

La organización del genoma y sus genes individuales es distinta en procariontes y eucariontes y estas diferencias explican en gran parte los diferentes procesos por los cuales se regula la expresión de genes en los dos grupos de organismos. En los procariontes, todos los genes están contenidos en una sola molécula de ADN sencillo o doble. Prácticamente todo el genoma de los procariontes está formado por copias únicas de genes, mientras una gran cantidad del genoma de los eucariontes puede consistir en múltiples copias de segmentos de ADN repetitivo y hay secuencias repetidas que no codifican proteínas. Es decir, en el genoma de los procariontes el gen está organizado como una secuencia codificadora ininterrumpida que se corresponde y es equivalente con la secuencia de aminoácidos del producto del gen, mientras que en los eucariontes los genes están separados en secuencias de ADN en los cromosomas, que pueden variar en número desde dos a cientos en un solo cromosoma. Además los genes en los eucariontes están organizados en secuencias codificadoras (**exones**) y no codificadoras (**intrones**) (Avers, 1991; Klug y Cummings, 1999).

Una vez que se comprendió que el ADN albergaba la información genética, fue importante determinar cómo se organizan los genes en los procariontes y en los eucariontes.

El ADN se organiza en forma similar aunque con algunas variaciones de organización de acuerdo con el grado de complejidad de la estructura del huésped al que está asociado. Los virus, las bacterias, las mitocondrias y los cloroplastos contienen una molécula corta de ADN, a menudo circular. Se ha reportado que en las bacterias las DNA girasas podrían participar en la compactación del ADN. En tanto que en los

eucariontes, el ADN está asociado a proteínas, histonas y no histonas que participan en su condensación (Klug y Cummings, 1999).

Los cromosomas están formados tanto de eucromatina y heterocromatina

Se conoce como **cromatina** al complejo de ADN y proteínas.

Aunque se asumió que la organización de la cromatina en los cromosomas es uniforme en toda su extensión, a principios del siglo pasado se observó que algunos cromosomas o algunas partes del cromosoma permanecen condensadas y otras no. En 1928 se designaron los términos **heterocromatina** y **eucromatina** (verdadera cromatina). En ésta última, se encuentran las secuencias de ADN que sí se codifican, expresan y traducen en proteínas. Por su parte, las áreas de heterocromatina son genéticamente inactivas porque no contienen genes o porque los genes que contienen son inactivos. Además, la heterocromatina se duplica posteriormente a la eucromatina durante la fase de síntesis (S) del ciclo celular. El descubrimiento de esas regiones de la heterocromatina proporcionó los primeros indicios de que partes de los cromosomas eucariontes no siempre codifican proteínas. Se considera que algunas regiones cromosómicas están implicadas en el mantenimiento de la integridad estructural del cromosoma y en otras funciones como la migración de los cromosomas durante la división celular (Klug y Cummings, 1999).

Hay cromosomas que se expresan durante un corto periodo de la vida embrionaria y posteriormente se inactivan, como los cromosomas X de mamíferos. A este tipo de cromatina se la ha llamado, tradicionalmente, heterocromatina facultativa, o también eucromatina que se heterocromatiniza facultativamente (Puertas, 1991)

Organización del ADN: Cromatina y Cromosoma

Los genomas eucariontes se encuentran en el núcleo celular. Cada cromosoma mantiene su individualidad durante el ciclo celular y ocupa un determinado espacio y volumen, conocido como territorio cromosomal o cromosoma (Meaburn y Miteli, 2007)

Durante la interfase, el material genético y sus proteínas asociadas se dispersan por el núcleo en forma de cromatina. Cuando empieza la mitosis, la cromatina se condensa gradualmente (profase I de la primera división meiótica) hasta formar cromosomas reconocibles. Esta condensación representa una contracción en longitud de aproximadamente unas 10,000 veces para cada fibra de cromatina (Klug y Cummings, 1999).

En la transcripción, toda la secuencia del gen se transcribe en el ARNm en el núcleo, sin embargo, antes de que entre al citoplasma, los intrones son eliminados y los exones se reúnen en una secuencia continua la cual se traducirá y producirá una proteína (Avers, 1991; Alberts *et al*, 2006).

La cromatina es una estructura dinámica. Ésta se condensa formando cromosomas pero también durante la interfase diferentes regiones se relajan y favorecen el acceso a secuencias de ADN específicas para la duplicación, reparación o su expresión genética. La condensación de los cromosomas, por lo tanto, debe ser lo bastante flexible como para hacer posible un rápido acceso al ADN o la fácil localización de una región específica del material genético en un determinado momento (Konberg y Lorch, 2007; Alberts *et al*, 2006).

Condensación del ADN

La longitud del ADN que comprende el genoma es mucho mayor que el tamaño de la estructura en la cual reside. Por lo tanto, el ADN debe ser condensado para caber en el reducido y limitado espacio del interior celular en donde se encuentra. El desafío de la compactación es particularmente notable en el núcleo. Por ejemplo, una célula humana típica, contiene aproximadamente cerca de 2m de ADN que se encuentra comprimido en un núcleo cuyo diámetro suele ser de aproximadamente de apenas 5 a 8 μm . En este espacio, el material genético se duplica, transcribe y repara. En general, la condensación del ADN depende de su unión a proteínas histonas y no histonas (Wanner y Formanek, 2000; Avers, 1991).

En la etapa G_1 del ciclo celular, el material genético se encuentra relajado y se sintetizan las proteínas necesarias para la etapa S, en que se lleva a cabo la duplicación del ADN. Posteriormente, G_2 es la etapa de preparación previa a la división celular en la mitosis. Durante la interfase, el material genético se encuentra relajado o poco condensado formando hebras de menos de 300 nm de diámetro, por lo que no pueden distinguirse como hebras individuales al microscopio óptico. En tanto que en el estado de mayor compactación, asociado con la etapa metafásica de la fase (M), este sí es visible al microscopio de luz, los cromosomas adoptan la conocida forma en X teniendo aproximadamente unos 1400 nm de diámetro entre las dos cromátidas del cromosoma (figura 2).

Condensación del ADN eucarionte.

En Eucariontes: Nucleosomas: Unidades de la estructura de la cromatina

En los eucariontes, el genoma está organizado en cromosomas independientes, cada uno con varios niveles de complejidad en su condensación. El nivel más simple o sencillo es el **nucleosoma**, un octámero de cuatro tipos de proteínas histonas, en pares, alrededor de las cuales están enrollados 146 pares de bases de ADN. Este empaquetamiento reduce aproximadamente seis veces la longitud del ADN, y en el microscopio electrónico tiene un parecido a un collar de cuentas de 11 nm de diámetro (figura 2).

Las histonas son las responsables del primer nivel de compactación de la cromatina, el **nucleosoma** (figura 2), el cual fue descubierto por Roger Kornberg en 1974, quien observó a pequeñas partículas llamadas **nucleosomas**. Ahora se sabe que la fibra de cromatina del cromosoma eucariótico está organizada como una serie de unidades de nucleosoma repetidas regularmente (Avers, 1991).

En la estructura de los nucleosomas cada una de sus partículas está constituida por un complejo de ocho histonas, dos moléculas de cada una de las histonas H2A, H2B, H3

y H4 y una doble cadena de ADN de cerca de 146 pares de nucleótidos que se enrollan alrededor de este octámero de histonas (Alberts *et al*, 2006).

En un siguiente nivel de compactación, los nucleosomas se enrollan, seis por vuelta, en la fibra de 30 nm, condensando el ADN. En el siguiente nivel, las proteínas no histonas constituyen un armazón sobre la cual las fibras de 30 nm forman dominios con asas, (300 nm), posterior a este hay otro nivel de plegamiento de asas llegando a 700 nm, el cual es la estructura que alcanzan los cromosomas en interfase. En tanto que el máximo plegamiento que alcanza un cromosoma, es de 1400 nm en la metafase de la mitosis (figura 2) (Avers, 1991).

En los cromosomas eucariontes, el modelo general de la estructura de la cromatina se basa en que las fibras de cromatina están compuestas por ADN y proteínas histonas y no histonas, todo lo cual hace posible un gran enrollamiento y plegamiento del ADN al condensarse dentro del núcleo celular (Holde y Zlatanova, 2007; Klug y Cummings, 1999).

También hay otras proteínas diferentes de las histonas asociadas al ADN que desempeñan una función en la organización de la cromatina en la célula. Ejemplo de esto es la enzima topoisomerasa. Su presencia proporciona la organización hacia el siguiente nivel de plegamiento o empaquetamiento del ADN, asociados a la formación que tiene 300 Å (30 nm) de diámetro (figura 2). Con excepción de las polimerasas, fosfatasas y algunas otras enzimas, se sabe poco acerca de la diversidad de proteínas cromosómicas no histonas y de su organización (Klug y Cummings, 1999; Avers, 1991).

En la transición de la fibra de cromatina completamente relajada al estado condensado del cromosoma debe alcanzar un gran nivel de condensación (relación entre la longitud de ADN y la longitud de la estructura que lo contiene). La fibra debe doblarse y enrollarse más para empaquetarse de manera aún más condensada en su nivel máximo, durante la formación del cromosoma metafásico (Klug y Cummings, 1999).

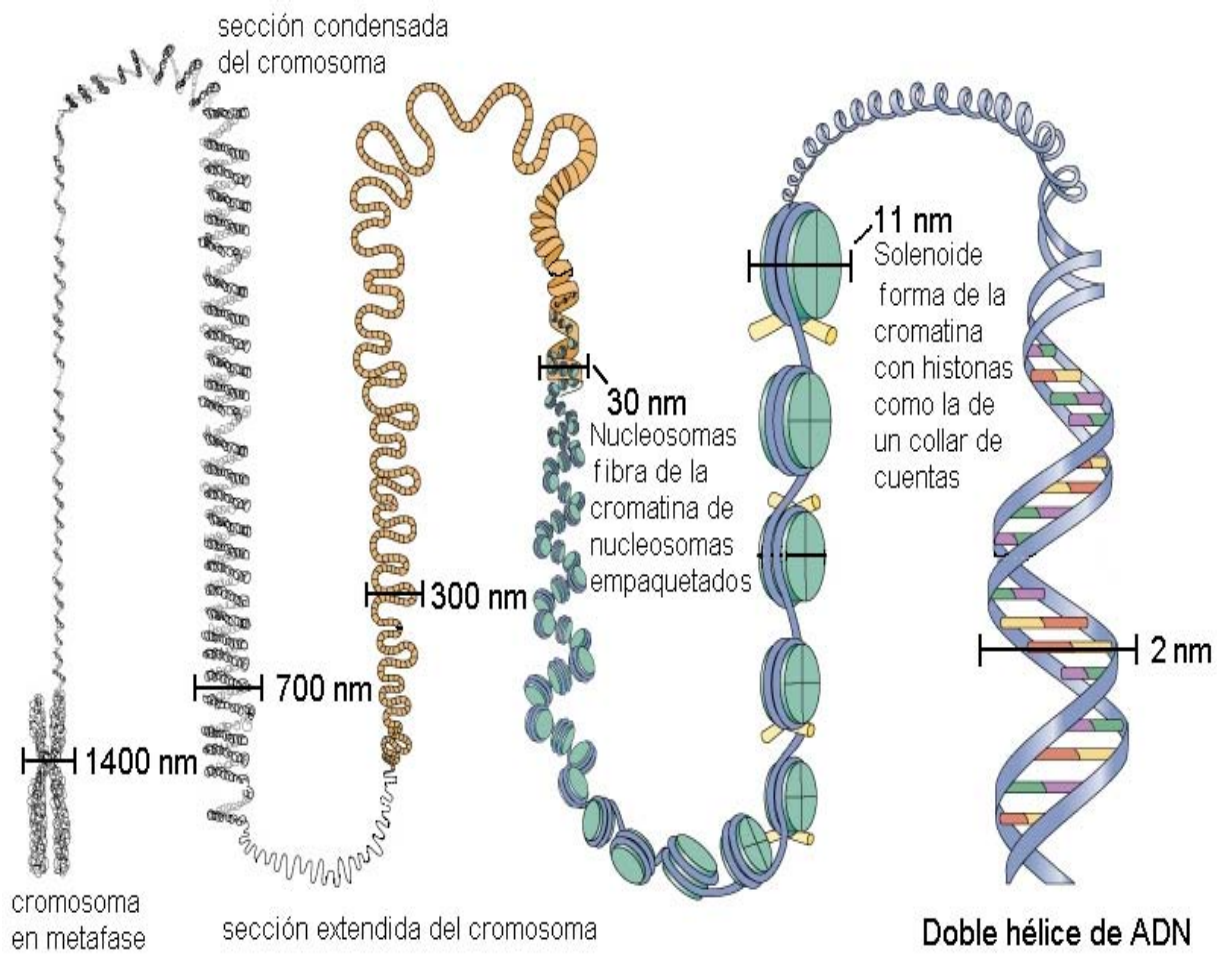


Figura 2 Niveles de condensación del ADN eucarionte en cromosomas (imagen según Pierce, 2002).

6.2 CAPÍTULO II CICLO CELULAR (MITOSIS Y MEIOSIS).

Ciclo Celular (Mitosis y Meiosis).

Una célula se reproduce mediante una serie ordenada de eventos en los que duplica su ADN y posteriormente se divide para formar dos nuevas células. A este continuo ciclo de duplicación y división celular se le conoce como **ciclo celular** (Alberts *et al*, 2006).

Para producir dos células genéticamente idénticas es necesario la duplicación del material genético en cada cromosoma, así como la separación, distribución de los cromosomas duplicados en dos nuevas células hijas, de manera que cada célula reciba una copia completa del genoma.

El ciclo celular en las células eucariontes está regulado por un sistema de control que responde a señales intracelulares y extracelulares, así como también a una serie de “interruptores” proteínicos que interactúan a nivel molecular con otras moléculas (Alberts *et al*, 2006).

El ciclo celular se compone de cuatro etapas o fases principales (figura 3): la **mitosis** o **en su caso la meiosis (M)**, y otras tres etapas: síntesis (**S**), **G₁**, y **G₂** que en su conjunto estas tres últimas constituyen a la interfase o periodo entre una mitosis y la siguiente. La fase de **síntesis (S)** es la etapa en que se duplica el material genético celular. Sin que se haya completado correctamente esta etapa, no se lleva a cabo la división celular. La fase de síntesis es precedida por **G₁** y seguida por **G₂**. La fase **G₁**, comprende el periodo entre el final de la **mitosis (M)** y el inicio de fase de síntesis. La fase **G₂**, es el periodo que sigue a la etapa de síntesis y precede al inicio de la mitosis. Finalmente, en la fase de **mitosis (M)**, se lleva a cabo la división nuclear, que es seguida por la división del citoplasma o citocinesis para formar 2 nuevas células hijas idénticas genéticamente a la célula que les dio origen.

En la metafase los cromosomas alcanzan el máximo grado de compactación. También se van condensando cada vez más los cromosomas durante la profase meiótica. En

tanto que durante la interfase del ciclo celular en G₁ y G₂, el material genético se encuentra relajado en preparación a las fases S y M respectivamente (Alberts *et al*, 2006; Griffiths *et al*, 2002).

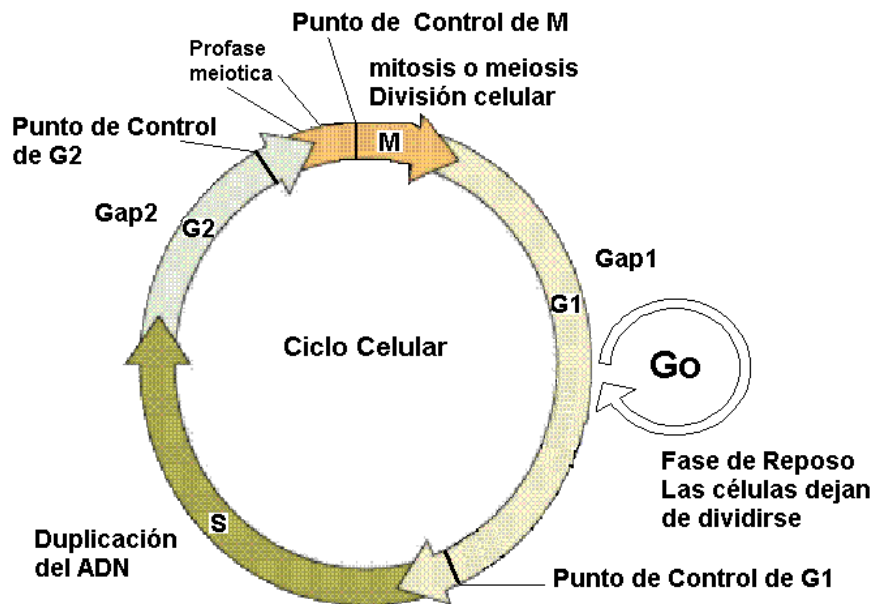


Figura 3 Ciclo Celular (imagen modificada de Watson *et al*, 2006)

Las células eucariontes han desarrollado mecanismos para controlar la manera de proliferar de las células; hay una serie de controles en casi todas las etapas del ciclo celular, los cuales están integrados y dependen de una continua evaluación del estado en que se encuentra la célula y de la permanente comunicación entre células vecinas y de otros tejidos. Hay una serie de mecanismos que mantienen una coordinación entre las diversas etapas del ciclo celular, todo lo cual hace posible una secuencia en las etapas del ciclo celular, siempre y cuando se cumplan una serie de condiciones adecuadas para ello (Griffiths *et al*, 2002).

Las etapas de cada una de las fases del ciclo celular (figura 3) tienen una secuencia, la cual normalmente se preserva. Por ejemplo, cuando se completa la duplicación del ADN se inicia la síntesis de proteínas que participarán en la segregación de cromosomas. El ADN se ha duplicado antes de que el núcleo comience a dividirse.

Así también, si el ADN llega a tener algún daño, el ciclo se interrumpe o detiene en G_1 o G_2 para que la lesión de su material genético pueda llegar a ser reparada, antes de que se duplique el ADN y/o antes del inicio de la división celular en la mitosis. Es decir, hay un sistema de control que puede aumentar o detener el ciclo celular en diversos puntos o fases. Por ejemplo, este sistema de control del ciclo celular garantiza que la duplicación del ADN comience y no se produzca más de una vez por ciclo celular. Sólo se iniciará la mitosis después de que se haya duplicado la totalidad del ADN y la división celular se realizará una vez que se haya completado la mitosis. Si uno de los pasos se llega a retrasar, el sistema de control puede llegar a retrasar la activación de la siguiente etapa del ciclo celular a fin de mantener la secuencia normal. Esta capacidad autorreguladora de la célula garantiza que si la síntesis de ADN se llegara a demorar, la célula no avanza en el ciclo celular. Este mecanismo de control interno celular, es capaz de detener al ciclo celular en alguno de los puntos de control específicos, hasta que se completan o corrijan las causas que han alterado el ciclo celular (Alberts *et al*, 2006).

En las fases G_1 y G_2 hay en cada una un punto de control del ciclo celular. El punto de control G_1 evalúa la masa de la célula y la integridad del ADN antes de pasar a la siguiente fase que es la síntesis. La proliferación celular depende de nutrientes y de moléculas de señalización específicas del medio extracelular, si las condiciones extracelulares no son favorables, las células pueden retrasar el progreso a través de G_1 e incluso pueden ingresar en una etapa de “reposo” conocida como G_0 . Por su parte el punto de control G_2 detiene a las células que no han duplicado su ADN o éste está alterado en su integridad (Alberts *et al*, 2006). En la fase M también hay otro punto de control del ciclo celular entre la metafase y la anafase.

La fase G_1 tiene gran interés en el estudio de la proliferación celular y de su control. En un momento tardío de G_1 , todas las células siguen uno de los dos siguientes caminos: o abandonan el ciclo celular y entran en una fase de “reposo” llamada fase G_0 , o bien inician camino y estado de todo o nada, es decir, continúan hasta completar el ciclo celular. El momento y punto en que sucede esto se conoce como punto de control de G_1 que se encuentra al final de la fase G_1 del ciclo celular.

Cuando las células alcanzan la diferenciación entran a la fase G_0 son viables y activas metabólicamente, pero no se dividen. Mientras una célula no ha completado su diferenciación, una vez que se han completado exitosamente G_1 , S y G_2 , puede dividirse (Klug y Cummings, 1999).

Regulación del Ciclo Celular:

A finales de 1980, se hizo evidente que los procesos moleculares que regulan los dos acontecimientos importantes del ciclo celular, la duplicación y la segregación de los cromosomas, son esencialmente similares en todas las células eucariontes (Lodish *et al*, 2005).

Estos estudios revelaron que el control de la división celular es la regulación del momento de la duplicación del ADN y la mitosis. Los controles principales de estos acontecimientos son un número pequeño de proteincinasas que contienen una subunidad reguladora (ciclina) y una catalizadora (cinasa dependiente de ciclina). Estas cinasas regulan la actividad de numerosas proteínas involucradas en la duplicación del ADN y la mitosis por fosforilación de sitios reguladores específicos, activando algunos e inhibiendo otros para coordinar sus actividades.

Las concentraciones de las ciclinas, las subunidades reguladoras de las proteíncinasas heterodímeras que controlan los acontecimientos del ciclo celular, aumentan y disminuyen a medida que las células avanzan en el ciclo. Las subunidades catalizadoras de estas cinasas, llamadas cinasas dependientes de ciclina (CDK), no poseen actividad de cinasa a menos que se asocien con una ciclina. Cada CDK puede asociarse con diferentes ciclinas y la ciclina asociada determina qué proteínas serán fosforiladas por un complejo ciclina-CDK determinado.

El progreso de una célula a través del ciclo celular es regulado por puntos de control cuya actividad tiene como consecuencia, que los cromosomas mantengan su integridad

y que en cada fase del ciclo celular se complete antes de comenzar la siguiente (Lodish *et al*, 2005).

La mitosis

La **mitosis** es la división celular que da lugar a dos células hijas, cada uno de las cuales contiene idéntico material genético que la célula que les dio origen (figura 4).

Los dos procesos fundamentales de la mitosis son la duplicación del ADN seguido de la segregación o separación, de sus dos cromátidas hermanas.

La **mitosis** para su estudio y comprensión, se divide en las siguientes fases: profase, metafase, anafase y telofase (Klug y Cummings, 1999). La **mitosis** es la división asociada a la proliferación celular. La consecuencia de la duplicación del ADN es que todos los cromosomas estén compuestos por cromátidas hermanas. Estas cromátidas no son visibles durante la interfase, pero sí se pueden observar durante la **profase I** de la primera división de la mitosis, durante la cual los cromosomas se contraen en una serie de estructuras espirales. La siguiente etapa es la **metafase**, en la cual cada pareja de cromátidas hermanas se sitúa en la parte media o plano ecuatorial de la célula. En la **anafase** las cromátidas hermanas son dirigidas y movidas hacia los polos opuestos de la célula mediante microtúbulos que se unen a los centrómeros. Los microtúbulos forman parte del huso acromático, es decir, una serie de fibras paralelas que se extienden algunos de un polo a otro de la célula. El proceso de segregación o separación de las cromátidas se completa en la **telofase**, durante la cual la membrana nuclear se restaura alrededor de cada polo o punto extremo de la célula y la célula finalmente se divide en dos nuevas células. Cada una de ellas, hereda una cromátida de cada pareja de cromátidas hermanas, obteniendo así una copia de cada cromosoma. Por tanto, este tipo de división produce dos nuevas células genéticamente idénticas, a partir a una única célula progenitora que les dio origen (figura 4) (Griffiths *et al*, 2002).

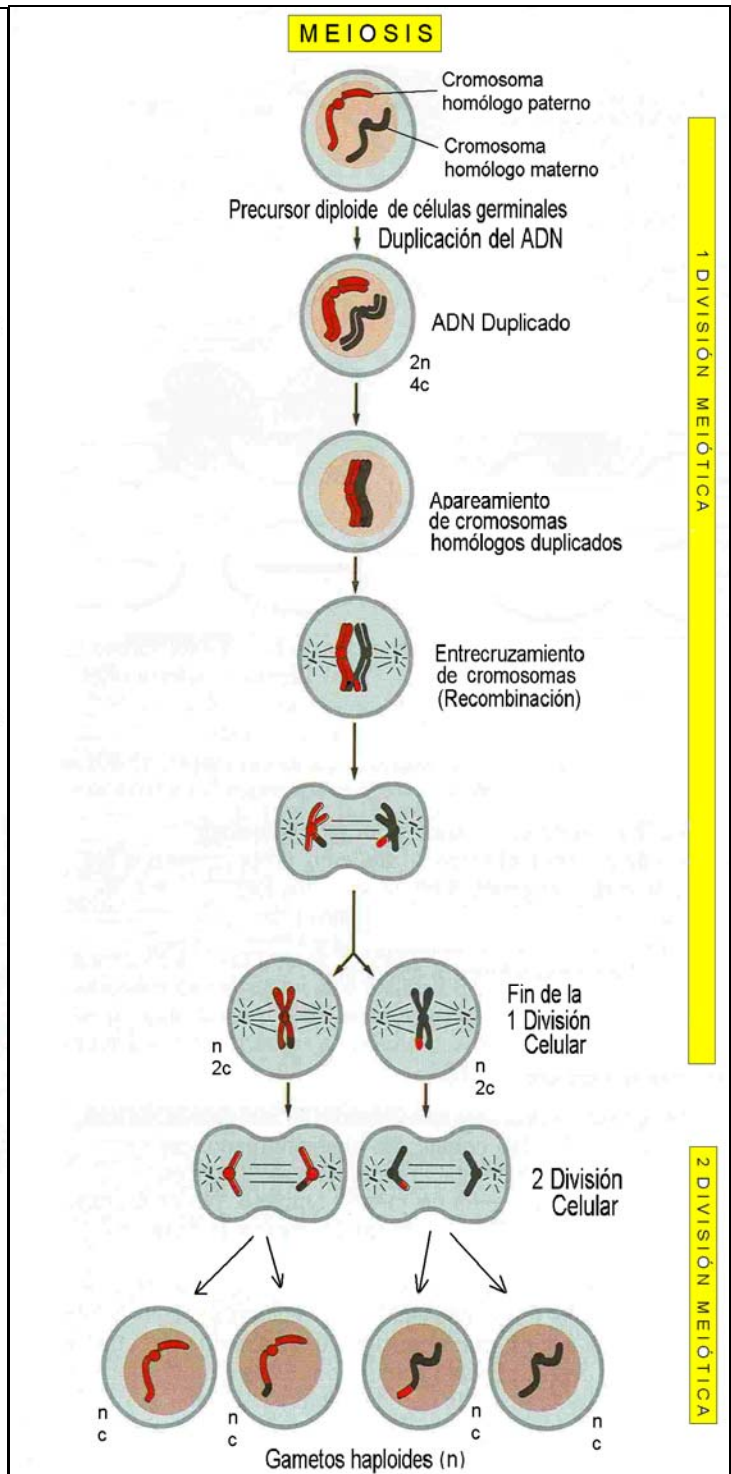


Figura 4 Mitosis.

Figura 5 Meiosis.

La dotación de cromosomas básica se presenta mediante la letra **n** (**haploide**); **2n** significa la dotación cromosómica **diploide**. **c** cantidad de ADN básico (imagen modificada del Alberts *et al*, 2006)

Meiosis

La meiosis es un tipo de división celular que reduce el nivel de ploidía en los organismos eucariontes que se reproducen sexualmente. Así también es un mecanismo en el cual se lleva a cabo la recombinación.

En la meiosis el ADN se duplica solamente una vez durante su primera división meiótica y posteriormente hay dos divisiones celulares sucesivas sin nueva duplicación de su material genético (figura 5).

Las versiones paterna y materna de cada cromosoma son similares pero no idénticas, se denominan **cromosomas homólogos** o simplemente **homólogos** (Alberts *et al*, 2006).

Antes de dividirse la célula por meiosis primero se duplican todos sus cromosomas. Las copias idénticas o duplicadas de cada cromosoma ya duplicado se mantienen unidas por el centrómero y se llaman **cromátidas hermanas** (figura 8) (Alberts *et al*, 2006).

La **meiosis** es la división celular mediante la cual una célula reproductora con dos dotaciones equivalentes de cromosomas homólogos, se divide dos veces para dar cuatro productos meióticos, cada uno de los cuales contiene una sola dotación de cromosomas (Griffiths *et al*, 2002) (figura 5).

Cada individuo que se forma por reproducción sexual, recibe información genética de su madre y de su padre empaquetada en forma de n cromosomas maternos y n paternos, adquiriendo, por tanto, $2n$ cromosomas (2 juegos de cromosomas, uno paterno y otro materno). Existe un mecanismo reductor de este número $2n$, de manera que cuando dicho individuo actúa, a su vez, como parental aportará sólo n cromosomas a sus descendientes. Este mecanismo es la meiosis, cuya finalidad es la reducción del número de cromosomas de $2n$ a n . Si no existiera meiosis, el número cromosómico cambiaría de una generación a la siguiente.

Tradicionalmente la meiosis se divide para su estudio en una serie de fases.

Se distinguen citológicamente dos divisiones: la primera división meiótica consta de: profase I (con sus subfases: (leptoteno, cigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis), metafase I, anafase I y telofase I. Posteriormente, sin duplicación de los cromosomas, comienza la segunda división meiótica con la profase II seguida de metafase II, anafase II y telofase II (figuras 5 y 6) (Puertas, 1991).

Al inicio de la meiosis, los cromosomas de la célula diploide están duplicados, las células tienen dos juegos, es decir, $2n$ cromosomas, la mitad de origen materno y la otra mitad de origen paterno. Los cromosomas maternos y paternos (cromosomas homólogos) se aproximan, atraídos entre sí, en un proceso que se denomina apareamiento o sinapsis de los cromosomas homólogos. En este punto en los organismos eucariontes se forma una estructura proteica conocida como Complejo Sinaptonémico (figura 7) (Puertas, 1991).

Cada cromosoma paterno duplicado se aparea con su homólogo materno duplicado. Este apareamiento asegura la segregación o separación correcta de los homólogos durante las divisiones celulares siguientes, de manera que cada uno de los gametos resultantes recibe un juego completo de cromosomas haploides. Al cabo de dos divisiones celulares sucesivas, llamadas meiosis I y meiosis II, se distribuye un juego completo de cromosomas entre cada una de las cuatro células haploides resultantes. Los homólogos se asignan a cada célula de manera aleatoria, al formarse los gametos a partir de estas células haploides, los cromosomas de origen materno y paterno dan lugar a nuevas diferentes combinaciones en los gametos (Alberts *et al*, 2006).

En la primera división meiótica, en la profase, los cromosomas duplicados se condensan, en tanto que en la metafase se alinean en el ecuador del huso meiótico; y en la anafase se separan hacia los polos. El apareamiento físico de los homólogos es importante ya que permite la segregación de los cromosomas homólogos paterno o materno hacia las células hijas. Como resultado de ello, cada gameto que se forma al finalizar el proceso adquirirá regularmente, una copia materna o una copia paterna de

cada cromosoma pero no ambas. La asignación de un homólogo materno o paterno a los gametos es azarosa, por lo cual los cromosomas materno y paterno con sus distintos grupos de alelos se reordenan en distintas nuevas combinaciones en cada gameto (Alberts *et al*, 2006).

La meiosis a diferencia de la mitosis, reduce la cantidad de material genético. Mientras que en organismos diploides la mitosis da lugar a células hijas idénticas genéticamente a la célula que le dio origen y con una dotación diploide completa, en meiosis se producen **gametos** con sólo una dotación haploide particular (figura 5).

Se ha descrito que el fenómeno de entrecruzamiento y por lo tanto de recombinación en la meiosis da lugar al intercambio genético entre cada uno de los miembros homólogos de una pareja de cromosomas. Se ha considerado que este proceso constituye la forma más importante para combinar información genética dentro de una misma especie, lo cual da lugar a la evolución propia de cada especie a través del tiempo (Klug y Cummings, 1999).

Subdivisiones de la profase de la primera división de la meiosis

La profase meiótica no coincide con la mitótica, esta primera es muy larga y durante ella los cromosomas homólogos se aparean íntimamente, al tiempo que se acortan y se ha propuesto que intercambian material genético. Las etapas en que se desglosa este proceso son leptoteno, cigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis (figura 6) (Paniagua *et al*, 2007).

Preleptoteno

A veces se observa una concentración de los cromosomas hasta el punto de que se observan individualizados, y luego hay una desespiralización. En general, en el preleptoteno los cromosomas son todavía muy delgados y difíciles de observar (Paniagua *et al*, 2007).

Leptoteno (figura 6)

Los cromosomas son más delgados y largos. A veces pueden contarse, aunque con mucha dificultad. En ellos se observan varios engrosamientos densos, denominados cromómeros. Corresponden a regiones de condensación del ADN e histonas, mediante plegamientos no muy bien conocidos (Paniagua *et al*, 2007).

Cigoteno (figura 6)

Comienza un apareamiento entre cromosomas homólogos. Algunas veces los cromosomas homólogos empiezan a unirse por sus extremos polarizados y continúan apareándose hasta el otro extremo. Otras veces, la unión tiene lugar simultáneamente en varios puntos a lo largo del cromosoma. Con el microscopio electrónico se aprecia que los cromosomas homólogos apareados no se fusionan, pues queda entre ellos un espacio de aproximadamente unos 150 nm. En este espacio se forma la estructura denominada Complejo Sinaptonémico (figura 7). Estas estructuras participan en el apareamiento de los cromosomas homólogos. Se extienden en toda la longitud del par de homólogos, aunque el intercambio sólo se producirá en algunos puntos.

Cada cromátida de un cromosoma está unida por un Complejo Sinaptonémico a otra cromátida de su cromosoma homólogo. Hay, por lo tanto, dos Complejos Sinaptonémicos por cada par de homólogos (Paniagua *et al*, 2007).

Paquiteno (figura 6)

En esta etapa se completa el apareamiento entre homólogos. A medida que avanza el proceso tiene lugar una contracción longitudinal de los cromosomas, que se hacen más cortos y gruesos. En ese momento se aprecia la constitución doble (dos homólogos) de cada cromosoma, que ahora se designa con el término bivalente.

Con el microscopio electrónico el paquiteno se reconoce, además de por la peculiar estructura del nucléolo, por la presencia de gruesos grumos de cromatina.

El paquiteno suele ser la etapa más larga de la profase de la primera división meiótica (Paniagua *et al*, 2007).

Diploteno (figura 6)

En esta etapa se denomina así porque con el microscopio óptico se pone en evidencia que cada homólogo de cada bivalente esta constituido por dos cromátidas perfectamente individualizadas, por lo que cada bivalente constituye una tétrada. El inicio de esta etapa viene marcado por el comienzo de la separación de los cromosomas homólogos de cada bivalente, como si se repeliesen.

Su número es muy variable pero, incluso en cromosomas pequeños, hay al menos uno por bivalente (Paniagua *et al*, 2007).

Diacinesis (figura 6)

Es difícil distinguir cuando empieza este periodo. En él se observan y producen la terminación de los quiasmas (entrecruzamientos), es decir, los quiasmas se van desplazando hacia los extremos del bivalente (Paniagua *et al*, 2007).

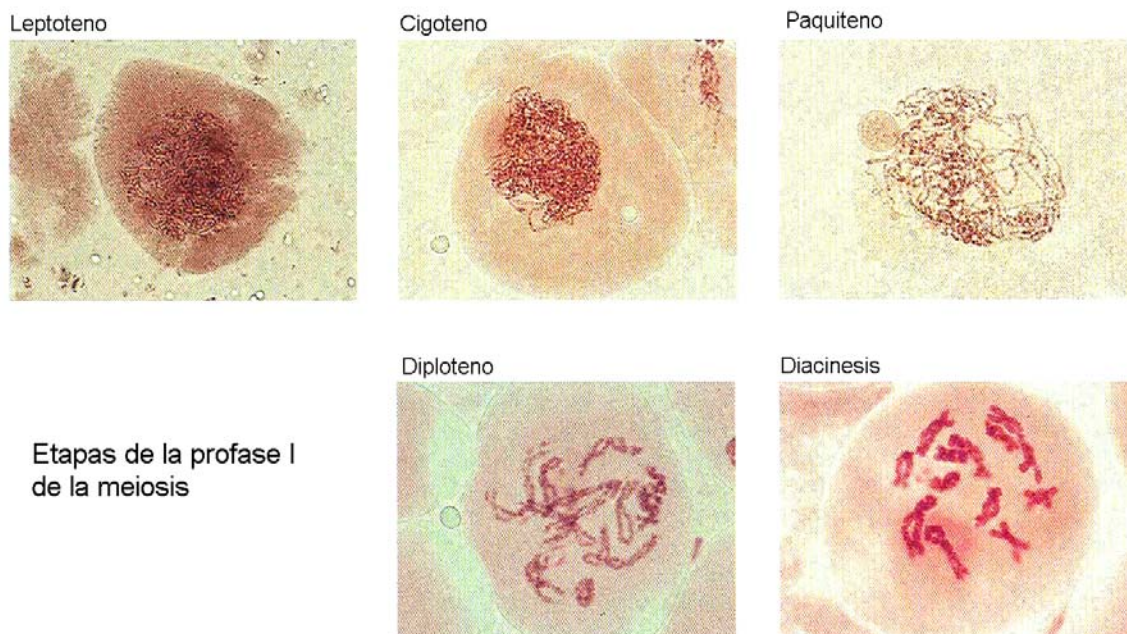


Figura 6 Etapas o subfases de la profase I de la primera división de la meiosis (imagen de Cooper, 2007)

La relación entre mecanismos de recombinación y de evolución

Se ha visto que las secuencias de ADN de las células se mantienen, de generación en generación con muy pocos cambios. Sin embargo, también se pueden reordenar. Esto altera tanto la combinación particular de genes de un genoma como el momento y nivel de expresión de estos genes. En una población, este tipo de variación es crucial para permitir su evolución en respuesta a un ambiente cambiante (Alberts *et al*, 2004).

La recombinación durante la meiosis es una de las principales fuentes de la variación genética en las especies que se reproducen sexualmente, aunque no es exclusiva de la reproducción sexual. Al mezclar la constitución genética de cada cromosoma en los gametos, el entrecruzamiento ayuda a producir individuos con combinaciones nuevas de genes. La recombinación genera combinaciones nuevas de genes maternos y paternos en cada cromosoma.

La redistribución de cromosomas durante la meiosis, junto con la recombinación de genes en el entrecruzamiento, proporciona una fuente casi ilimitada de variación genética en los gametos formados por un solo individuo. Si se considera que cada organismo con reproducción sexual surge por la unión de dos gametos, uno del padre y otro de la madre, no sorprende la riqueza de variación que vemos a nuestro alrededor (Alberts *et al*, 2006).

Algunas importantes semejanzas y diferencias entre los mecanismos de mitosis y meiosis (tabla 1)

En resumen, algunas de las semejanzas y diferencias entre los mecanismos de mitosis y meiosis se presentan en la tabla 1. Mitosis y meiosis son dos procesos de división celular que se llevan a cabo después de haberse duplicado el ADN. La mitosis produce dos nuevas células genéticamente idénticas; mientras que la meiosis da como resultado cuatro células haploides diferentes. La mitosis se presenta tanto en las células de organismos procariontes y eucariontes. En tanto que la meiosis solo se presenta en los eucariontes que tienen reproducción sexual. Así, las células que tienen mitosis pueden ser haploides o diploides en tanto que la célula que va a tener meiosis es

diploide y al final de este proceso termina como haploide. La mitosis se presenta tanto en células somáticas como germinales, aunque sólo en estas últimas se presenta meiosis. En células somáticas y germinales se presentan procesos de reparación y de entrecruzamiento y por ende de recombinación. Otra diferencia, es que mientras en la meiosis participa el Complejo Sinaptonémico, éste está ausente en la mitosis. Por su parte, la segregación de los cromosomas homólogos sólo sucede en la meiosis. En cuanto a eventos de recombinación, se presentan tanto en mitosis y meiosis. La segregación de cromátidas hermanas, se presenta tanto en procesos mitóticos y meióticos. Finalmente, otras semejanzas en los mecanismos mitóticos y meióticos es que la maquinaria enzimática necesaria que interviene en los procesos de reparación y de recombinación es la misma o muy similar con la participación de nucleasas para el corte y eliminación de segmentos de ADN dañados, DNA polimerasas para la polimerización de segmentos de ADN y, finalmente, ligasas para al unión de los segmentos de ADN reparado.

Tabla 1 Algunas importantes semejanzas y diferencias entre mitosis y meiosis

	Mitosis	Meiosis
En procariontes	Si	No
En eucariontes	Si	Si
Tipos de células	Somáticas y germinales	Germinales
Nivel de ploidía	Haploide y diploide	Diploide
Modificación en el nivel de ploidía	Se conserva	Se reduce
Complejo Sinaptonémico (CS)	No presenta	Sí presenta
Segregación de cromátidas hermanas	Si	Sí
Segregación de cromosomas homólogos	No	Sí
División celular	Una fase S por división celular	Una fase S para 2 divisiones celulares
Presenta entrecruzamiento	Sí	Sí
Eventos de reparación	Si	No se conoce

Complejo Sinaptonémico

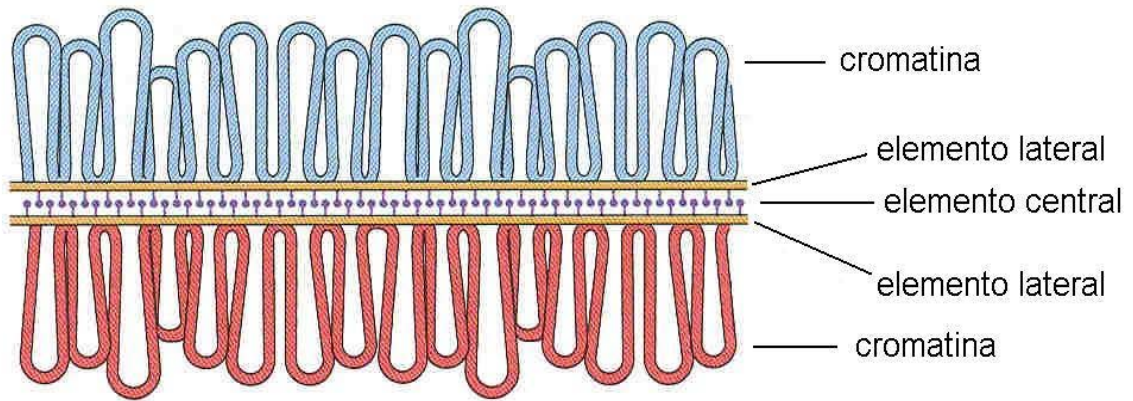


Figura 7 Complejo Sinaptonémico (imagen de Cooper, 2007)

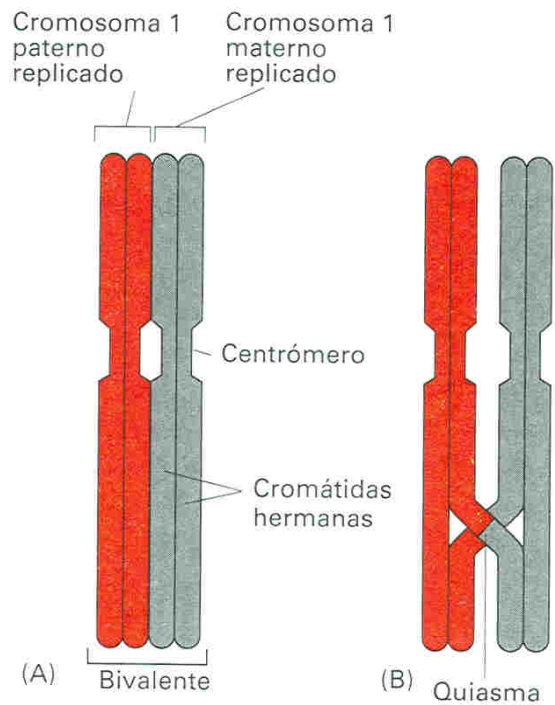


Figura 8 Quiasmas durante en el entrecruzamiento en la recombinación (imagen de Alberts *et al*, 2006)

6.3 CAPÍTULO III DAÑOS AL ADN (MUTACIONES).

La mutación es un fenómeno biológico natural que sucede desde el mismo comienzo del ciclo de vida de un ser vivo (Griffiths *et al*, 2002).

Se denomina mutación a todo cambio repentino y permanente en la secuencia de bases del ADN de un organismo (Avers, 1991; Solari, 2004)

Las mutaciones pueden producirse de forma espontánea mediante diferentes mecanismos que incluyen errores en la duplicación del ADN, lesiones azarosas en el material genético, elementos genéticos transponibles, etc (Griffiths *et al*, 2002).

A pesar de que la célula normalmente tiene mecanismos para proteger al ADN, se llegan a presentar daños o errores, los cuales originan **cambios** o **mutaciones** que modifican, dañan al ADN o pueden afectar a la información que contiene. Ocasionalmente, ésto puede llegar a perjudicar o beneficiar a organismos en los que se produce una mutación. La acumulación de cambios en el ADN durante millones de años ha proporcionado una variedad en el material genético de una especie que la hace distinta de otra. También, las mutaciones causan pequeñas variaciones en la que se basan las diferencias entre los individuos de una misma especie que se pueden ver fácilmente en los seres humanos, los animales, etc (Alberts *et al*, 2006).

Un cambio permanente en el ADN puede tener diferentes consecuencias. La mutación que afecta solo a un par de nucleótidos puede poner en peligro la salud de un individuo si el cambio es causado en una posición vital en la secuencia de ADN. Lo que llevaría a la producción de una proteína con una secuencia alterada que podría no funcionar, o funcionar ineficientemente (Alberts *et al*, 2006).

Una o más mutaciones en las células germinales serían transferidas a todas las células somáticas en los organismos multicelulares que se desarrollan a partir del cigoto formado por esa célula, incluyendo a las propias células germinales para la producción de la siguiente generación.

Las células tienen una serie de mecanismos para reducir y reparar las mutaciones en su ADN, de manera que éste se mantenga, preserve, y duplique sin cambio, de generación en generación (Alberts *et al*, 2006).

Las mutaciones pueden provocar la pérdida de función de un gen o la aparición de una nueva función (Griffiths *et al*, 2002).

Las mutaciones se pueden clasificar de varias maneras, una de las cuales es dependiendo del tipo celular al que afecten. Dentro de esta clasificación, podemos encontrar **mutaciones tanto en células somáticas y en células germinales**. Las mutaciones tanto en las células somáticas como en las células germinales pueden transmitirse a las células descendientes, con la diferencia de que en estas últimas, pueden transmitirse a los nuevos organismos, descendientes de las células germinales. Las células somáticas únicamente actúan afectando al individuo que las posee (Klug y Cummings, 1999; Griffiths *et al*, 2002).

Mutación en células somáticas

Las posibles consecuencias de una mutación somática en una célula o un organismo completamente desarrollado serían las siguientes. La mutación somática su efecto será mayor, si se produce pronto en el desarrollo, donde las células indiferenciadas originan diversos tejidos y órganos diferenciados. Si la mutación sucede en una célula concreta de un tejido somático en desarrollo, será la progenitora de una población de células mutantes idénticas, descendientes todas ellas de la célula que mutó. Incluso si fuera una mutación dominante que provocara un error celular grave, podría dar como resultado la pérdida de función, la cual sería compensada por las células normales del tejido o en caso de ser grave, se podría provocar la muerte celular (Griffiths *et al*, 2002).

Mutación en células germinales

Son las mutaciones que actúan en los gametos, las cuales se llevan a cabo en las células germinales. Si esta célula tiene una mutación y participa en la fecundación, la

mutación pasará a la siguiente generación de organismos que implican a todas las células somáticas incluyendo a las propias células germinales (Klug y Cummings, 1999).

Mutaciones espontáneas e inducidas (figura 9)

Las mutaciones pueden producirse de forma espontánea y también pueden inducirse. Las **mutaciones espontáneas** se producen de forma natural por causas no identificadas y su frecuencia es baja. Las **mutaciones inducidas** se producen cuando un organismo es expuesto a un agente mutagénico (Griffiths *et al*, 2002).

Las **mutaciones inducidas** son aquellas que surgen como resultado del efecto de un agente mutagénico físico, químico o biológico (figuras 9 y 10). Los mutágenos son agentes cuyo efecto biológico es provocar mutaciones a una mayor tasa de frecuencia de mutación que la basal o espontánea.

Los agentes físicos son una amplia gamma de radiaciones de distintas fuentes, la mayoría de los organismos estamos expuestos a ellas como por ejemplo los rayos gamma, rayos X y las radiaciones ultravioletas (UV) emitidas por el sol, que inducen la formación de dímeros de pirimidina en el ADN (Griffiths *et al*, 2002; Klug y Cummings, 1999).

Entre los agentes químicos que son mutagénicos, se encuentran el ácido nitroso, la hidroxilamina, los agentes alquilantes y los análogos de bases; todos ellos, provocan cambios químicos en los nucleótidos que alteran sus afinidades de emparejamiento provocando distintos tipos de mutaciones (Klug y Cummings, 1999).

Algunos de los mutágenos, actúan imitando o alterando las bases del ADN que no emparejan correctamente.

Los mutágenos, pueden reemplazar una base del ADN por otra, alterar una base de modo que se empareje erróneamente de forma específica con otra base, o dañar una

base de modo que ya no pueda emparejarse con ninguna otra base (Griffiths *et al*, 2002).

También están los agentes biológicos, que pueden causar alteraciones en el ADN como por ejemplo las causadas por virus, bacterias y hongos, siendo ejemplo de estos últimos los daños a la salud e incluso la muerte que pueden llegar a causar las aflatoxinas de algunos hongos.

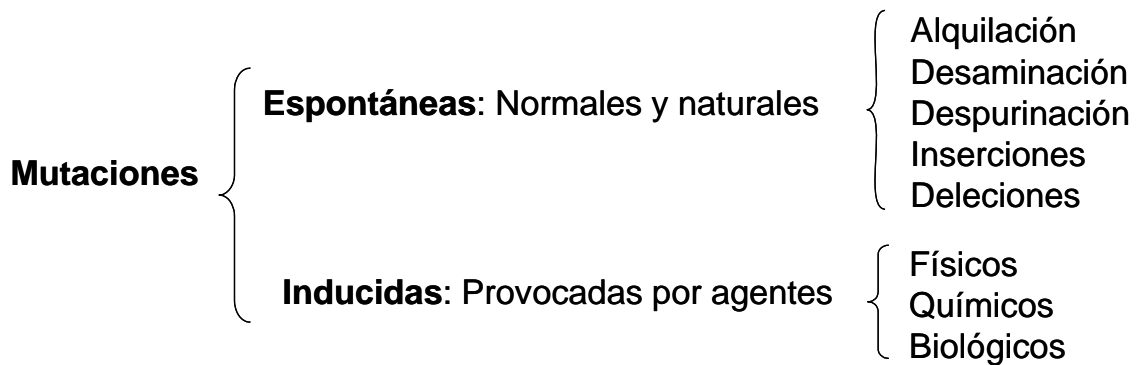


Figura 9 Tipos de agentes causantes de mutaciones en el ADN.

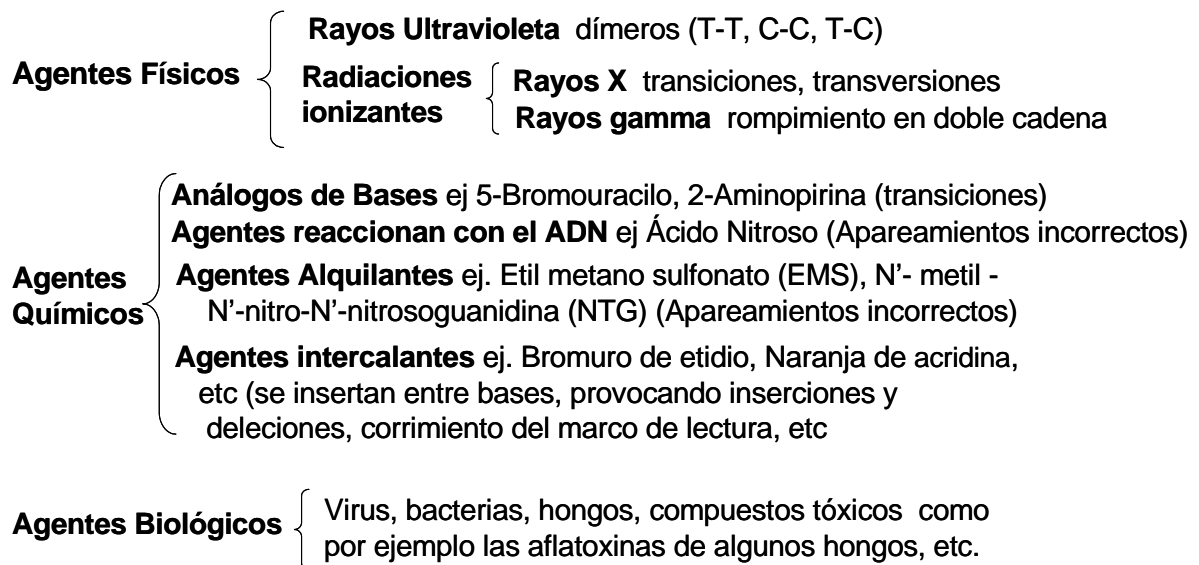


Figura 10 Mutaciones inducidas causantes por agentes físicos, químicos y biológicos.

La importancia de las mutaciones con relación a eventos celulares como los mecanismos de reparación y de recombinación, es que algunos tipos de daños, pueden causar no sólo rompimientos en segmentos de la doble cadena del ADN en uno o más genes, sino también en algunos casos pueden provocar rompimientos en los cromosomas. Con todo lo cual, el material genético llega a tener importantes y graves daños, que en el menor de los casos pueden volver inestable al ADN, pero que en casos severos, pueden dañarlo irremediablemente con posibles graves e irreversibles consecuencias e incluso con la propia muerte celular y/o del organismo que contiene a estas mutaciones.

Tipos de mutaciones:

Las mutaciones pueden clasificarse de varias maneras por ejemplo, con un criterio morfológico o de acuerdo con un criterio funcional (Solari, 2004).

I De acuerdo a su morfología las mutaciones pueden ser: (figura 11).

I a) **Puntuales:** (afectan a una única base, es decir, un par de bases complementarias del ADN). Las mutaciones puntuales son sustituciones de bases de una por otra sin ganancia o pérdida neta de material cromosómico. Las mutaciones puntuales pueden producirse por errores de la duplicación del ADN, de la reparación que sigue al daño del ADN o con mayor frecuencia como resultado de deaminaciones espontáneas de citosina metilada a timina (Solari, 2004; Manson, 2003).

Las sustituciones se clasifican en:

Transiciones: Cambio de una base púrica por otra púrica o una base pirimídica por otra pirimídica

Transversiones: Cambio de una base púrica por una pirimídica o viceversa.

I b) **De extensión variable o segmentarías** (cuando pueden afectar más de una base). Estas mutaciones pueden ser deleciones, inserciones o expansiones de repeticiones de tripletes (Solari, 2004). La **inserción** es la ganancia y la **delección** es la pérdida de

material cromosómico que va desde uno a varios pares de bases (Solari, 2004; Manson, 2003).

II Desde el punto de vista funcional las mutaciones pueden ser: (figura 11).

II a) **Silenciosas:** En este caso no se observa ningún efecto sobre el fenotipo. Corresponden a cambios de bases en regiones no codificantes que tampoco contienen secuencias de control, por ejemplo en ADN satélite, en la parte media de intrones, etc (Solari, 2004).

II b) **De cambio de lectura** (por delección o inserción). En este caso se produce un cambio en el marco de lectura de los tripletes por la pérdida o la adición de una o dos bases, o por la inserción de una o dos (o múltiplos de dos). Dado que el efecto de la delección de una base puede ser compensado por la inserción de otra (y viceversa), existen mutaciones “compensadoras” (Guizar, 1994).

II c) **Sin sentido:** Corresponden al cambio de una base que convierte un triplete codificante en uno sin sentido, que al ser reconocido por los factores de terminación produce el rompimiento o termino de la cadena polipeptídica (Guizar, 1994).

No todas las mutaciones en una proteína se traducen en un cambio de aminoácidos, esto es debido a dos hechos:

- Como para algunos aminoácidos existen varios tripletes, si la mutación cambia, de uno de estos tripletes a otro que codifique el mismo aminoácido, el efecto no se aprecia en la estructura final de una proteína. La mutación no se hace evidente o permanece “silenciosa”, ya que la secuencia de aminoácidos en la proteína no se altera.
- El otro hecho es que la mutación se presente en regiones que no se expresan en secuencias de aminoácidos como las regiones conocidas como intrones o en regiones previas o posteriores a la región donde se encuentra codificada la proteína (Guizar, 1994).

II d) **De cambio de sentido** (limitado a un triplete). Se trata de las sustituciones

II e) **De elementos de control**. Estas mutaciones afectan secuencias tales como un promotor, un intensificador u otras secuencias reguladoras (Solari, 2004).

En todos los tipos de mutaciones, el error presente en la secuencia debe ser autorreproducible en cada división celular, porque de lo contrario quedaría limitado a la única célula en la que se originó, la que podría morir sin consecuencias mayores para un organismos multicelular. Por otra parte, al hablar de mutaciones se sobreentiende que la mutación afecta la línea germinal, para ser transmitida a la próxima generación (Solari, 2004).

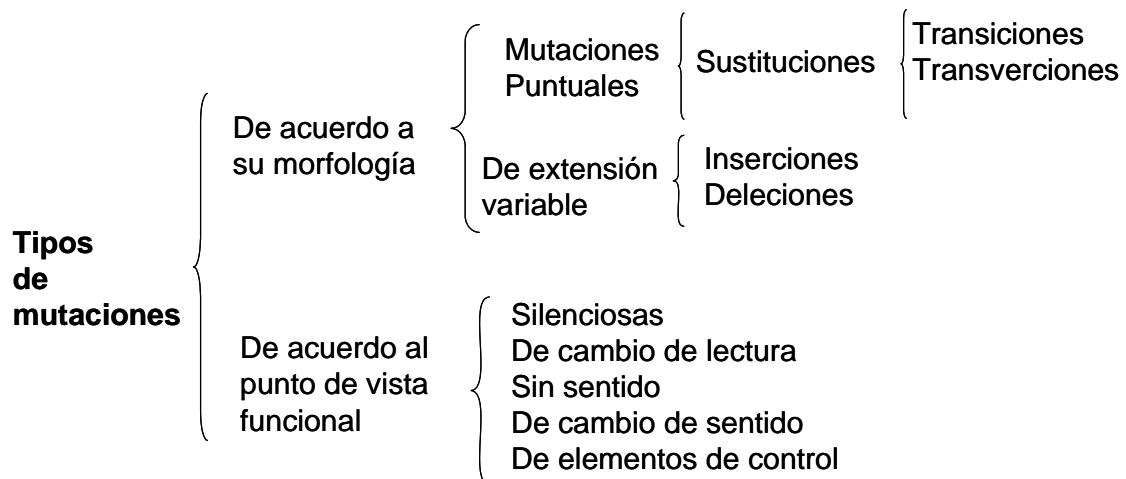


Figura 11 Tipos de mutaciones en el ADN.

Anormalidades o alteraciones cromosómicas: (figura 12).

Éstas son de dos clases:

- 1) alteraciones numéricas (aneuploidias, poliploidias, etc.)
- 2) alteraciones estructurales (deleciones, duplicaciones, inversiones, y translocaciones etc.) (Manson, 2003; Salamanca, 1993).

Cariotipo: Constitución cromosómica de un individuo. El cariotipo humano normal es 46 XY (varones) o 46 XX (mujeres) (Manson, 2003).

1A) Alteraciones numéricas: (figura 12).

Las alteraciones en el número cromosómico de las células pueden originarse como resultado del fenómeno denominado no disyunción o no separación cromosómica, de un rezago anafásico en la migración de los cromosomas hacia los polos celulares o por cambios en el número de cromosomas de los gametos que implican la repetición de varios conjuntos haploides de cromosomas. Las fallas pueden originarse en la división de meiosis, tanto en la primera como en la segunda división de la meiosis o en ambas, o presentarse durante la división de tipo mitótico (Manson, 2003; Salamanca, 1993).

2) Alteraciones estructurales: (figura 12).

Los cromosomas están expuestos a la acción de numerosos agentes ambientales mutagénicos que los dañan y les ocasionan fracturas o rompimientos. Estos agentes pueden ser de naturaleza física, como las radiaciones, químicas como mutágenos tales como por ejemplo agentes alquilantes, o biológicos, como los virus (Manson, 2003; Salamanca, 1993).

Las alteraciones estructurales incluyen enfermedades debidas a: translocaciones, inversiones, duplicaciones y deleciones de fragmentos cromosómicos que implican muchos genes.

2A) Si un cromosoma pierde un segmento de su estructura se dice que tiene una **delección** pérdida de material genético.

2B) Se dice que hay una **duplicación** cuando un segmento o una misma secuencia de genes aparece repetida en el mismo cromosoma.

2C) Hay **inversión** cuando se producen dos rompimientos en el cromosoma y los segmentos de ADN implicado tienen una rotación de 180° grados, es decir, se colocan en el cromosoma en forma invertida, quedando la secuencia de genes alterada (Manson, 2003; Salamanca, 1993).

2D) Se denomina **translocación**, a la transferencia o intercambio de segmentos entre cromosomas o de un cromosoma a otro. La translocación puede ser recíproca o no, y puede involucrar cromosomas homólogos o no homólogos, normalmente sucede entre cromosomas distintos.

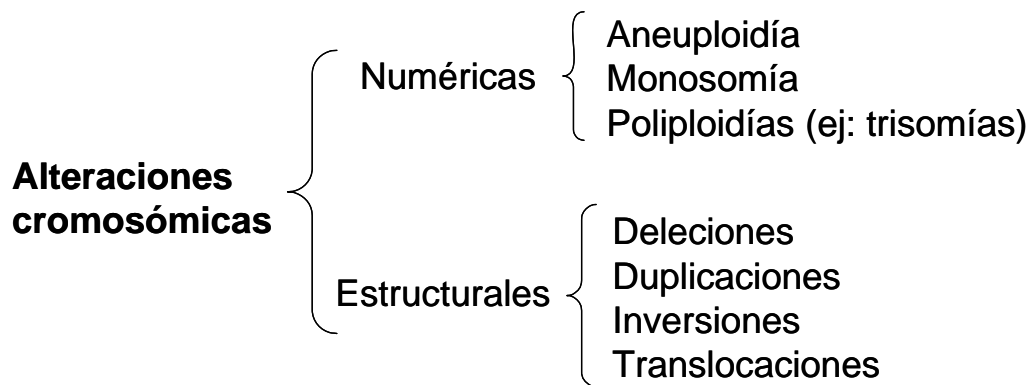


Figura 12 Alteraciones cromosómicas.

6.4 CAPÍTULO IV

MECANISMOS DE REPARACIÓN DEL ADN

El ADN está continuamente expuesto a distintos tipos de agentes que pueden ser internos o externos, que pueden dañarlo produciendo mutaciones. Los agentes internos, son por ejemplo metabolitos, los cuales pueden provocar en el ADN rompimientos durante el empaquetamiento del ADN en los cromosomas. Por su parte, los agentes externos, pueden ser físicos, químicos o biológicos todos ellos son mutágenos susceptibles de provocar mutaciones. El ADN repara la mayor parte de estos daños por medio de sus mecanismos de reparación (Alberts *et al*, 2006).

De manera constante todo el tiempo existen amenazas potenciales para la fidelidad en la copia y duplicación del ADN. No solo hay una tasa de error inherente a la duplicación del ADN, sino que también suceden lesiones espontáneas que añaden nuevos errores. Además, los mutágenos presentes en el ambiente pueden dañar el ADN y aumentar la tasa de mutación.

Los mecanismos de reparación del ADN se han estudiado tanto en procariontes como en eucariontes. Todos ellos son esenciales para la supervivencia de los seres vivos. (Puertas, 1991; (Klug y Cummings, 1999).

Las enzimas de los mecanismos de reparación presentes en las células vivas minimizan en gran medida el daño genético, evitando así muchas mutaciones. Las células que carecen de sus mecanismos de reparación, o funcionan ineficazmente, tienen frecuencias de mutación más altas que los de organismos eficientes en reparación. En la especie humana, los errores en los sistemas de reparación son la causa de una gran variedad de enfermedades y de una mayor susceptibilidad a desarrollar cáncer, todo lo cual puede reducir considerablemente la calidad y esperanza de vida (Griffiths *et al*, 2002; Klug y Cummings, 1999).

Los cambios genéticos permiten a los organismos adaptarse a las condiciones cambiantes del lugar en el que viven. Sin embargo, a corto plazo, y desde la perspectiva de un organismo individual, el cambio genético puede llegar a ser

perjudicial. Para sobrevivir y reproducirse, los individuos requieren ser genéticamente estables. Esta estabilidad se alcanza a través del preciso mecanismo de duplicación del ADN, así como también mediante eventos para corregir errores de copiado durante la duplicación del ADN y para reparar el daño accidental que se pueda producir sobre éste. La mayor parte de los cambios en el ADN son temporales porque tienden a ser corregidos inmediatamente por procesos denominados en su conjunto **mecanismos de reparación del ADN** (figura 13). El ADN puede ser reparado con facilidad por el hecho de que una cadena puede ser corregida utilizando a la otra cadena como molde.

Los errores de copiado poco frecuentes en la maquinaria de duplicación del ADN son corregidos por medio de proteínas que reparan los errores de apareamiento, las cuales revisan el ADN recién duplicado y reparan los errores de copiado. La DNA polimerasa en general es bastante precisa y tiene capacidad de autocorrección, es decir, puede corregir sus propios errores. Antes de que agregue un nuevo nucleótido a la cadena de ADN en crecimiento, verifica si el nucleótido agregado antes está apareado correctamente a la cadena molde. Si es así, la polimerasa agrega el siguiente nucleótido; de lo contrario, la polimerasa libera al nucleótido apareado erróneamente mediante el corte del enlace fosfodiéster que había hecho y nuevamente lo vuelve a sintetizar. Por su parte, la DNA polimerasa tiene actividad de polimerización de 5' a 3' y actividad de exonucleasa de 3' a 5' (Alberts et al, 2006).

El mecanismo básico general en los mecanismos de reparación para arreglar el daño al ADN comprende los siguientes tres puntos o etapas: eliminación, nueva síntesis y unión.

1.- Primera etapa (eliminación del daño). El ADN dañado es reconocido y eliminado por una de las diferentes nucleasas (endonucleasas), que rompen los enlaces covalentes de unión de los nucleótidos dañados del resto de la molécula de ADN, dejando un pequeño espacio o hueco en la cadena de la doble hélice de ADN en esa región.

2.- Segunda etapa (nueva síntesis). Una DNA polimerasa de reparación se une al extremo 3' del hidroxilo de la cadena de ADN cortada o rota y luego llena el espacio al hacer una copia complementaria de información almacenada con base en la otra

cadena que no está dañada. Aunque es una enzima diferente de la DNA polimerasa que duplica el ADN, la DNA polimerasa de reparación sintetiza las cadenas de ADN del mismo modo, llenando el espacio creado en la primera etapa de la eliminación. Sintetiza las cadenas en dirección 5´ a 3´ y tiene el mismo tipo de actividad de corrección para asegurar que la cadena es copiada correctamente.

3.- Tercera y última etapa (unión). Una vez que la DNA polimerasa ha reparado y llenado el espacio, se mantiene el rompimiento en el esqueleto azúcar-fosfato de la cadena reparada, la cual es unido y sellado por la DNA ligasa, volviéndose así a generar el enlace fosfodiéster roto entre los nucleótidos adyacentes (Alberts *et al*, 2006).

Tipos de Mecanismos de Reparación del ADN

Los tipos de mecanismos de reparación del ADN los hay por rompimiento en cadena sencilla y en doble cadena. Entre algunos de los de cadena sencilla están los siguientes: por emparejamientos erróneos, por fotoreactivación, por escisión de bases, escisión de nucleótidos y el SOS. Por su parte entre los mecanismos de reparación del ADN de doble cadena esta el mecanismo de reparación por recombinación homóloga.

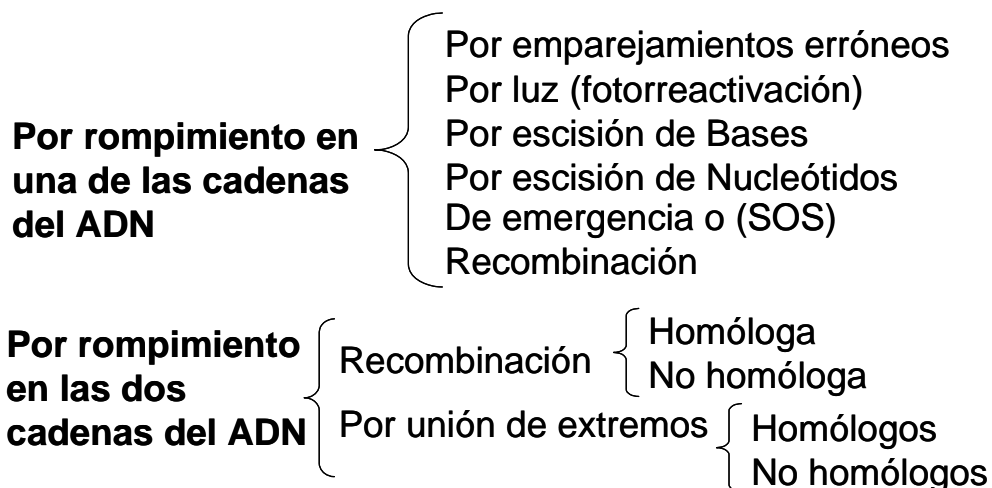


Figura 13 Tipo de mecanismos de reparación.

Mecanismo de reparación de los apareamientos incorrectos

El sistema de **reparación de emparejamientos erróneos** (figura 14), detecta los emparejamientos erróneos que se producen durante la síntesis; es decir, cuando se está realizando la duplicación del ADN. Al suponer un sistema que pueda reparar los errores de la duplicación, este sistema debe ser capaz de hacer lo siguiente:

- 1.- Reconocer pares de bases mal o incorrectamente emparejadas
- 2.- Determinar cuál de las dos bases del emparejamiento erróneo es la incorrecta
- 3.- Separar y eliminar la base incorrecta y realizar la sustitución y síntesis de reparación correcta (Griffiths *et al*, 2002).

La DNA polimerasa III tiene la función de autocorrección. Cuando se inserta un nucleótido incorrecto durante la polimerización, el complejo enzimático tiene la capacidad de reconocerlo y corregirlo, cortando el nucleótido incorrecto y replazándolo.

Para hacer frente a los errores que quedan después, puede activarse el mecanismo denominado **reparación de emparejamientos erróneos**. Igual que las otras lesiones del ADN, una vez detectada la alteración o emparejamiento erróneo, se elimina el nucleótido mal emparejado y es remplazado por la base correcta. Pero hay un problema especial con este tipo de mecanismo de corrección, en cómo puede reconocer el sistema de reparación qué cadena es la correcta (la cadena molde) y cuál es la que contiene la base mal apareada.

El proceso se ha dilucidado al menos en algunas bacterias, como en *E. coli*. Éste se basa en el proceso de metilación del ADN. Esta bacteria contiene una enzima, la **adenina metilasa** (Klug y Cummings, 1999).

La **adenina metilasa**, es la enzima que añade grupos metilo en las adeninas de la cadena de ADN. No obstante, la enzima tarda varios minutos en reconocer y modificar las secuencias recién sintetizadas. El sistema de reparación de emparejamientos erróneos actúa durante ese periodo de tiempo, en que se puede distinguir las cadenas viejas de las nuevas por el patrón de metilación (ADN hemimetilado). La metilación de

la adenina, no afecta al emparejamiento de las bases, aunque proporciona una etiqueta apropiada que puede ser detectada por otros sistemas enzimáticos. Inmediatamente después de la duplicación del ADN la única cadena que está metilada en sus bases es la vieja cadena. Para reconocer la cadena vieja molde de la cadena recién sintetizada, el sistema de reparación de emparejamientos erróneos de las bacterias aprovecha el retraso normal en la metilación posterior a la duplicación del ADN (figura 14) (Griffiths *et al*, 2002).

Una vez que se ha identificado el sitio mal emparejado, el mecanismo de reparación de emparejamientos erróneos corrige el error.

La reparación de emparejamientos erróneos también se produce en organismos eucariontes, por un proceso similar al descrito anteriormente por metilación de la adenina en procariontes (Klug y Cummings, 1999).

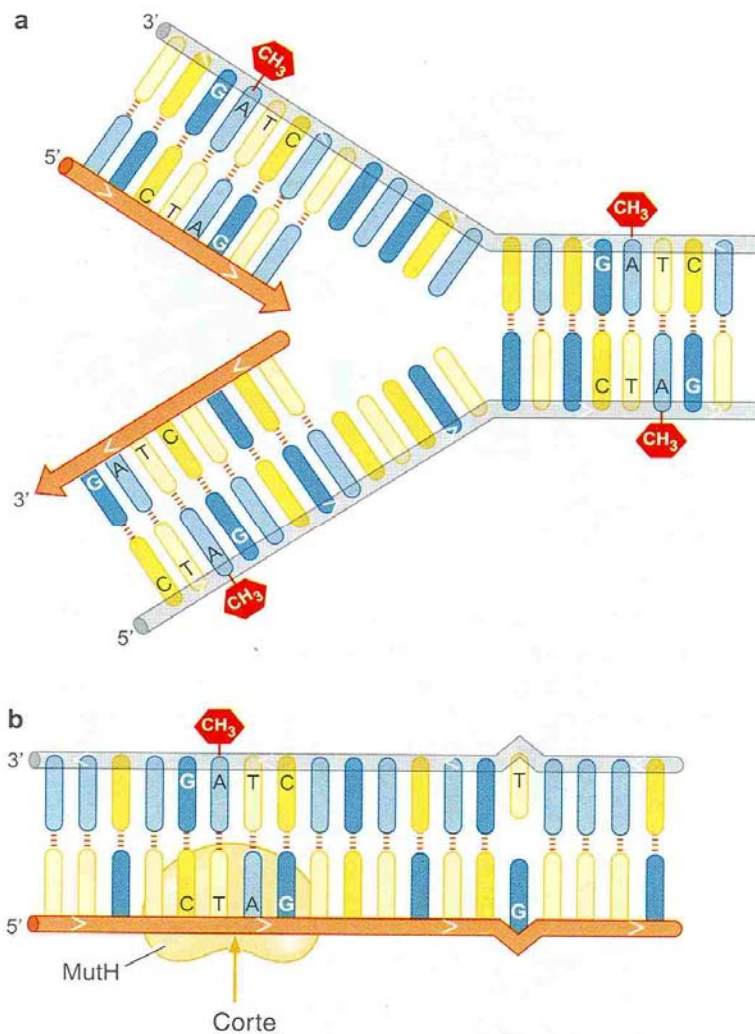


Figura 14 Mecanismo de reparación de emparejamientos erróneos (imagen de Watson *et al*, 2005)

Reparación por fotorreactivación.

Una forma simple y directa de reparar una lesión, una vez que ha ocurrido, es eliminarla directamente, o revirtiendo ésta. No siempre es posible la **reversión**, ya que algunos tipos de daños son esencialmente irreversibles. Sin embargo, en algunos casos las lesiones se pueden revertir. Un ejemplo es el fotodímero mutagénico causado por la luz ultravioleta (UV). El fotodímero de pirimidina-ciclobutano (figura 15) puede ser reparado por medio de la enzima **fotoliasa** (figuras 15 y 16), la cual se ha reportado en bacterias y eucariontes. La enzima se une al fotodímero y lo rompe en presencia de ciertas

longitudes de onda de luz visible, regenerando las bases originales (figuras 15 y 16) (Griffiths *et al*, 2002).

El proceso de **reparación por fotoreactivación** depende de los mecanismos inducidos por la luz visible solar los cuales implican una reacción química controlada enzimáticamente. La luz visible parece inducir el proceso de reparación del ADN dañado por la radiación ultravioleta (figuras 15 y 16).

Estudios posteriores de fotoreactivación han revelado que en el proceso participa una proteína llamada enzima **DNA-fotoliasa**, la cual, captura la energía de la luz del sol y la utiliza para romper los enlaces covalentes que unen los dímeros de timina contiguos. En otras palabras, las bases dañadas se reparan de manera directa revirtiendo así el efecto de la radiación UV en el ADN. Dejando finalmente a las dos timinas que normalmente están apareadas con las adeninas de la hebra complementaria del ADN (figuras 15 y 16). Este mecanismo de reparación se considera libre de error ya que no implica síntesis adicional (Klug y Cummings, 1999; Watson *et al*, 2005; Puertas, 1991).

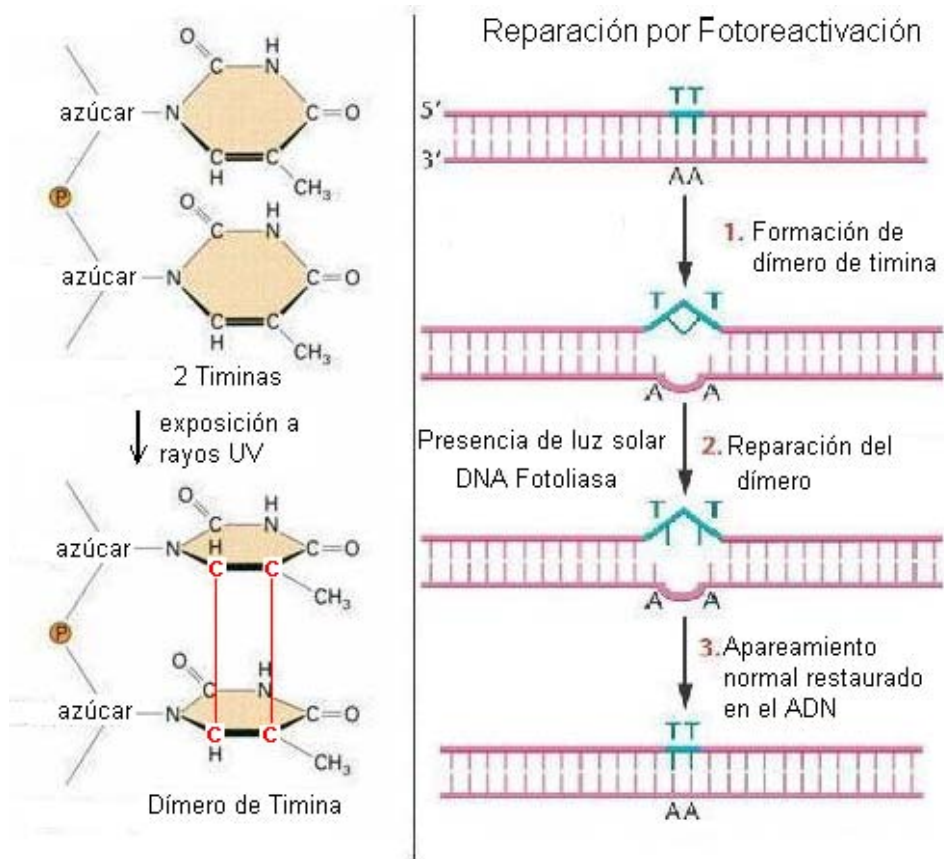


Figura 15 Mecanismo de reparación por fotorreactivación (imagen modificada de internet: www.biol.unt.edu/molecular/Genetics%20LEctures/BIOL3451%20Ch15%20Lect.ppt)

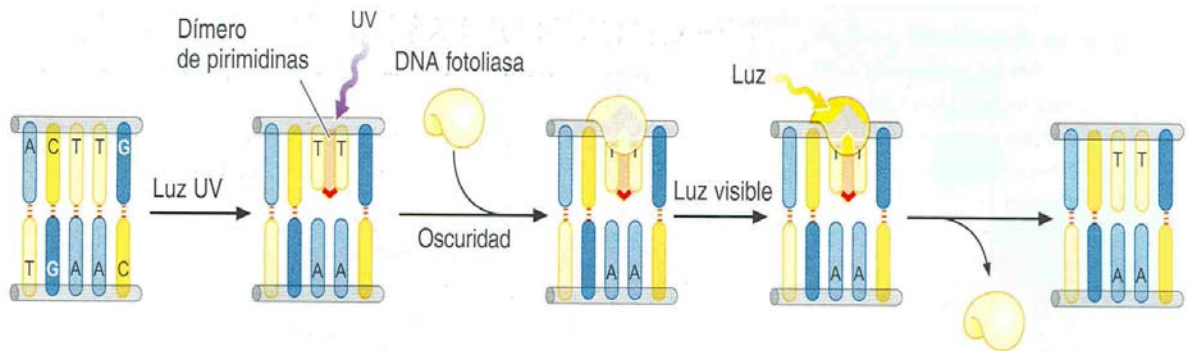


Figura 16 Mecanismo de reparación por fotorreactivación (imagen de Watson *et al*, 2005)

Mecanismo general de la reparación por escisión

En la reparación por escisión se elimina el segmento de ADN dañado, se reemplaza mediante la síntesis de un nuevo ADN para el cual la cadena de ADN no dañada sirve como cadena molde para la DNA polimerasa.

Hay dos tipos de mecanismos de reparación por escisión: de bases y de nucleótidos. El primero comprende la eliminación de únicamente la base dañada, en tanto que el segundo es la eliminación del segmento de ADN que contiene a la lesión (Watson *et al*, 2005).

Mecanismo de reparación por escisión de bases

Las enzimas llamadas **glucosilasas** detectan bases anormales y las eliminan separándolas del azúcar, mientras que el esqueleto azúcar-fosfato permanece intacto. Es decir, las glucosilasas de ADN rompen los enlaces glucosídicos (base-azúcar), liberando la(s) base(s) dañada(s) o modificada(s) generando un hueco en el ADN, es decir, un sitio denominado como **sitio AP** (sitio sin base puríca ni pirimídica). A continuación, el sitio AP resultante es reparado por la enzima **endonucleasa AP** (figura 17) la cual corta unos cuantos nucleótidos al lado del daño. Después de que el nucleótido dañado se eliminó por completo de la columna, una DNA polimerasa polimeriza y rellena el hueco, y finalmente las ligasas unen los huecos del ADN reparado, es decir, restauran la integridad de la cadena (Griffiths *et al*, 2002; Watson *et al*, 2005; Puertas, 1991).

Se ha demostrado que el proceso de reparación por escisión puede activarse en respuesta a cualquier daño que deforme la estructura de la hélice del ADN. Esta deformación es reconocida por el sistema de reparación por escisión, que se activa para corregir el error (figura 17) (Klug y Cummings, 1999).



Figura 17 Mecanismo de reparación por escisión de bases (imagen de Alberts *et al*, 2006)

Reparación general por escisión de nucleótidos

Este sistema funciona por medio del reconocimiento de distorsiones en la forma de la doble hélice, como las causadas por un dímero de timina o por la presencia de un aducto químico o abultamiento en una base. Estas distorsiones desencadenan la eliminación de un segmento corto de ADN de aquella cadena que contiene a la lesión. Esta eliminación crea un espacio de una sola cadena en el ADN, que la DNA polimerasa rellena, utilizando y tomando como base a la cadena no dañada y así restaura la secuencia de nucleótidos (Watson *et al*, 2005).

Este mecanismo de **reparación por escisión de nucleótidos** (figura 18), implica el rompimiento de dos enlaces fosfodiéster sobre la misma cadena, uno a cada lado de la lesión, lo que da lugar a la escisión de un oligonucleótido. Esta escisión deja un hueco que se sustituye mediante una síntesis de reparación que queda finalmente sellada y unida por la DNA ligasa.

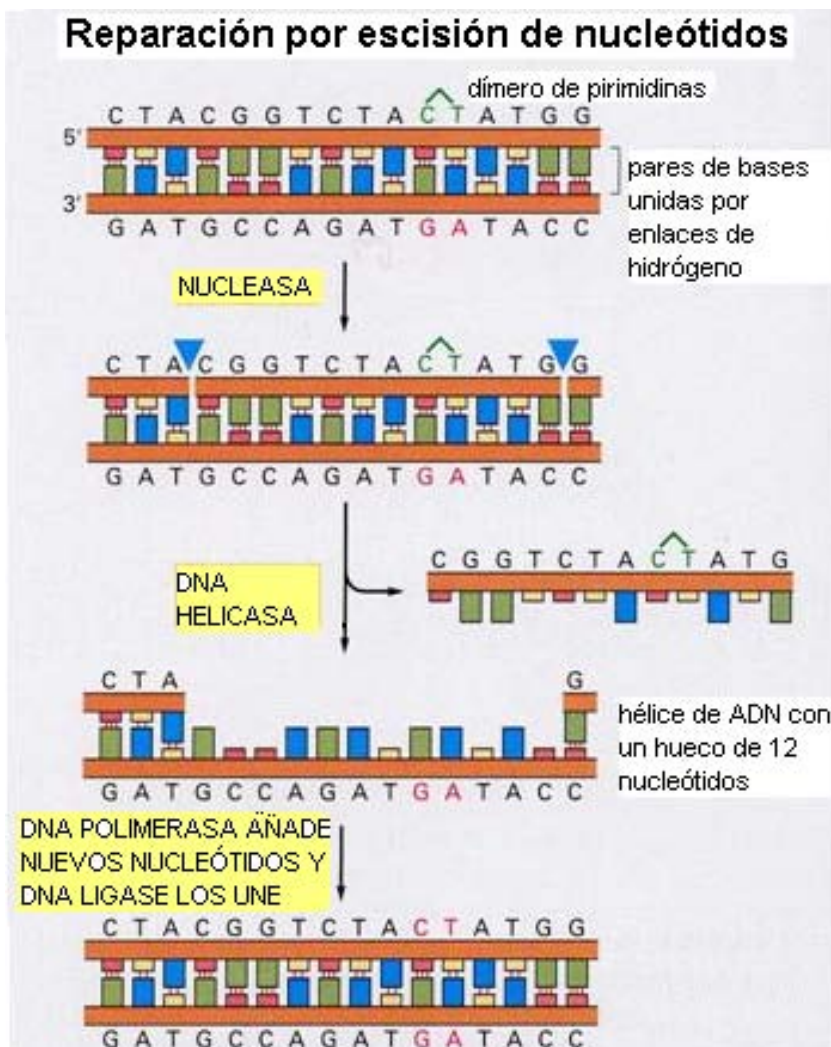


Figura 18 Mecanismo de reparación por escisión de nucleótidos (imagen de Alberts *et al*, 2006)

El mecanismo de reparación de emergencia o (SOS).

Llamado también sistema de reparación propenso a errores. El nombre de SOS proviene de que este sistema se induce como una respuesta de emergencia que impide el bloqueo o interrupción de la duplicación del ADN, sin que se muera la célula en el caso de que se produzca un daño no significativo en el ADN. La inducción de SOS es un último recurso, que permite la supervivencia de la célula a cambio de un cierto grado de error. Por medio de este mecanismo de reparación se insertan bases y/o nucleótidos al azar, aunque no necesariamente son complementarios.

Cuando el avance de una DNA polimerasa en duplicación se bloquea por bases dañadas, una polimerasa de **translesión** especial copia a través del sitio de la lesión de una manera que no depende del apareamiento de las bases de la cadena de ADN plantilla, mecanismo conocido como **reparación SOS o síntesis de translesión**. Este mecanismo es un sistema de último recurso, porque este tipo de síntesis es llevada a cabo por DNA polimerasas capaces de realizar la síntesis de ADN de una manera propensa a cometer errores, debido a que integra bases al azar, como emergencia, sin ser un mecanismo fino, con tal de que el ADN no quede interrumpido (Watson *et al*, 2005).

No está claro cómo funciona exactamente el sistema de reparación SOS, aunque se sabe que la enzima RecA está implicada en este sistema de reparación. Se conoce también que en *E. coli* depende al menos de tres genes: *RecA* (que también está implicado en el mecanismo de recombinación general), *UmuC* y *UmuD*. Los modelos actuales para el sistema SOS sugieren que las proteínas *UmuC* y *UmuD* interactúan con el complejo de duplicación de la DNA polimerasa III, permitiendo así la duplicación del ADN (Griffiths *et al*, 2002).

En la reparación SOS las enzimas implicadas se diferencian de otros mecanismos de reparación porque no se encuentran presentes habitualmente en la célula, sino que se induce su síntesis cuando son necesarias. Por ejemplo, en una lesión del ADN que ha escapado a los demás mecanismos de reparación, cuando se está llevando a cabo otra nueva duplicación, ésta se queda normalmente detenida, debido a que no puede

proseguir, debido a un rompimiento, un hueco, un dímero de timina, etc. en el ADN. En cambio el mecanismo de reparación SOS “repara” el ADN por un sistema en el que se colocan nucleótidos en la zona dañada del ADN sin seguir estrictamente las normas de apareamiento de bases dictadas por la hebra parental. Debido a lo anterior, esta reparación puede producir mutaciones, debido a que las nuevas bases que se han colocado no son necesariamente bases complementarias pero, en cualquier caso, salva una situación de emergencia del daño al ADN, porque la DNA polimerasa puede proseguir la síntesis; es decir, el ADN pueda proseguir su duplicación y, por tanto, la célula se podrá dividir y así completar su ciclo celular (Puertas, 1991).

6.5 CAPÍTULO V RECOMBINACIÓN

Concepto general

La **recombinación** es el proceso de intercambio entre moléculas o cadenas de ADN después de su ruptura y reunión subsecuente, para dar como resultado un nuevo arreglo diferente de las moléculas parentales de ADN que le dieron origen (Avers, 1991; Griffiths *et al*, 2002).

La combinación particular de genes presentes en cualquier genoma individual es a menudo modificada por reordenamientos del ADN, causados por uno de los mecanismos de reparación conocido como **recombinación** (Alberts *et al*, 2006).

Reparación por recombinación

Aunque la recombinación se ha considerado un mecanismo para explorar nuevas combinaciones de secuencias, también participa como uno de los mecanismos de reparación de daño al ADN (Watson *et al*, 2005).

Cuando ambas cadenas están dañadas y/o cuando el ADN está roto. En esta situación una cadena no puede servir como base para la reparación de la otra cadena. Así en la reparación por recombinación, también conocida como reparación de rompimientos bicatenarios, la información de la secuencia se toma del otro cromosoma no dañado, es decir, se usa como base al cromosoma homólogo.

La **reparación por recombinación homóloga** es el proceso por el cual dos moléculas de ADN de doble cadena de similar secuencia de nucleótidos pueden entrecruzarse para crear nuevas moléculas de ADN con una nueva secuencia y por ende con un nuevo arreglo genético distinto de su ADN parental que les dio origen (figura 24) (Alberts *et al*, 2006).

Niveles de Recombinación

Existen dos niveles de apareamiento, el primero es el **apareamiento general**, por el que se ponen en contacto los cromosomas homólogos en toda su longitud. El segundo nivel es el **apareamiento específico** que permite el contacto, a nivel molecular, de segmentos cortos de ADN de cromátidas homólogas; en ellas es donde sucede el entrecruzamiento, es decir, la recombinación recíproca normal. Para que esto se lleve a cabo, en las zonas de apareamiento específico, las moléculas de ADN deben relajar su compactación, desenrollarse formando hebras simples y posteriormente reasociarse formando moléculas de hebra doble en las hebras de las cromátidas de los cromosomas homólogos (Puertas, 1991).

Evidencias citológicas de la recombinación

Entrecruzamiento y recombinación

En general el entrecruzamiento (figuras 5 y 8), se ha considerado el intercambio físico resultado del rompimiento y reunión entre segmentos de ADN de cromosomas homólogos cuando se aparean o tienen **sinapsis**. Como consecuencia del entrecruzamiento, se obtiene una mezcla o **recombinación** de los alelos entre los cromosomas homólogos. Los alelos son las formas alternativas en que se puede presentar un gen (Alberts *et al*, 2006).

Morgan propuso el término **entrecruzamiento** para describir el intercambio físico que da lugar a la **recombinación** (Klug y Cummings, 1999).

Hacia 1911 Thomas Morgan ya había sugerido que se podrían producir recombinaciones alélicas por intercambios entre cromosomas homólogos en un proceso que llamó **entrecruzamiento**. Pasaron varios años antes de que se obtuviera la evidencia convincente de los intercambios físicos conducentes a la recombinación y otros más antes de que el mecanismo de estos intercambios físicos fuera finalmente verificado (Avers, 1991).

El **entrecruzamiento** es el intercambio entre cromosomas homólogos en la meiosis, es la base de la recombinación genética. Este intercambio es un proceso de rompimiento físico y reunión de segmentos de ADN que sucede durante la meiosis. Este intercambio de segmentos cromosómicos proporciona un gran potencial de variación genética en los gametos formados por cada individuo. Este tipo de variación, asegura que todos los descendientes tengan una mezcla diversa de alelos paternos y maternos (Klug y Cummings, 1999).

En realidad no se sabe cómo los cromosomas homólogos se reconocen entre sí. En muchos organismos se cree que la asociación inicial es un proceso llamado apareamiento, el cual es mediado por la interacción entre pares de bases de ADN complementarias en numerosos sitios muy dispersos del cromosoma. La estructura que se forma cuando se aparean los cromosomas duplicados se llama bivalente y contiene cuatro cromátidas (Alberts *et al*, 2006).

Janssens observó que los cromosomas homólogos en sinapsis en la meiosis se entrecruzaban entre sí, originando **quiasmas** (figura 8) (Klug y Cummings, 1999).

La pregunta es, ¿son los quiasmas las manifestaciones citológicas de los entrecruzamientos?. La teoría clásica dice que el **entrecruzamiento** es el resultado de tensiones físicas impuestas por los quiasmas, cuya presencia y localización se dan al azar. Aunque no es necesaria una relación uno a uno, un quiasma puede o no inducir el rompimiento y reunión que da lugar al entrecruzamiento, esta teoría dice que los quiasmas son los responsables del entrecruzamiento y claramente le preceden. Se conoce que los quiasmas se ven por primera vez en la profase I tardía de la primera división celular de la meiosis I (figuras 5 y 8), la teoría clásica predice que el entrecruzamiento sucede antes de que los cromosomas se separen en la anafase de la primera división de la meiosis, probablemente en el paquiteno (figura 6).

La otra teoría, **la quiasmática**, propuesta por F.A. Janssens a principios del siglo XX y modificada posteriormente por John Belling y C.D. Darlington alrededor de 1930, predice que el entrecruzamiento se lleva a cabo antes de la formación de los quiasmas

y se da al principio de la profase I de la meiosis (figuras 5 y 8). En consecuencia, los quiasmas se forman en los puntos en donde hubo intercambio, entrecruzamiento y por lo tanto recombinación. Así, a los quiasmas se les ha atribuido, que probablemente puedan ser la consecuencia de un entrecruzamiento y, por lo tanto, la manifestación citológica de que hubo recombinación por medio de un intercambio cromosómico. La teoría quiasmática ha ido ganado apoyo (Klug y Cummings, 1999).

Durante la meiosis, cuando los cromosomas homólogos duplicados se aparean entre sí, a menudo dos cromátidas no hermanas aparecen entrecruzadas. La estructura cruciforme resultante recibe el nombre de **quiasma** (figura 8). La existencia de los quiasmas se le ha atribuido como la visualización del concepto de entrecruzamiento propuesto por Morgan con lo cual se relacionó directamente con éste. Hay que tomar en cuenta que los quiasmas parecen indicar que el entrecruzamiento tiene lugar entre cromátidas y no entre cromosomas no duplicados.

Algunos de los trabajos de Thomas Morgan y Alfred Sturtevant sobre recombinación y ligamiento

Los genes que son transmitidos juntos son llamados **genes ligados** y ellos se encuentran en un mismo cromosoma. Morgan llamó a esto **ligamiento** (Tamarin, 1996; Avers, 1984).

Morgan utilizó varias cepas mutantes en cruzamientos involucrando dos o más genes ligados. El y sus colaboradores, particularmente Sturtevant realizó una cuidadosa argumentación y análisis del patrón hereditario de los genes ligados. Ellos estudiaron y realizaron el análisis de genes en el mismo cromosoma los cuales tienen tendencia a ser transmitidos juntos durante la formación de gametos (Avers, 1984).

Alfred Sturtevant, estudiante de Thomas Morgan, en la Universidad de Columbia, fue el primero en darse cuenta de que la propuesta de su maestro podía también utilizarse para cartografiar la secuencia de genes ligados (Tamarin, 1996; Avers, 1984).

En 1923 Morgan y Sturtevant habían demostrado claramente que el ligamiento no está restringido a los genes ligados al cromosoma X (Tamarin, 1996; Avers, 1984).

Mapa somático o mapas de ligamiento

Conforme Morgan estudió más genes, observó que la proporción de la descendencia recombinante variaba considerablemente, dependiendo de qué genes ligados estuviera analizando, estas variaciones en la frecuencia de entrecruzamiento podían indicar de alguna manera las distancias reales que separaban unos genes de otros en los cromosomas (Griffiths *et al*, 2002).

La idea básica es la siguiente: imaginar a dos genes específicos situados a una cierta distancia uno de otro; ahora imaginemos que los entrecruzamientos suceden al azar a lo largo de los cromosomas homólogos apareados. Sturtevant propuso que, con una cierta aproximación, se cumplía la siguiente relación: cuanto mayor es la distancia entre genes ligados, mayor es la probabilidad de que tenga lugar un entrecruzamiento en la región comprendida entre los genes y, por tanto, mayor será la proporción de recombinantes que se obtengan. Así se puede obtener una medida de la distancia entre los genes, mediante la determinación de la frecuencia de recombinación obtenida a partir de los hijos. La conclusión de todo esto es que la distancia en el mapa de ligamiento se corresponda con la distancia física a lo largo del cromosoma, ésta fue la idea a la que llegaron Morgan y Sturtevant (Tamarin, 1982; Tamarin, 1996).

Se puede utilizar el porcentaje de recombinación como una estimación de la distancia entre loci en un cromosoma: 1% de recombinación es referido o equivale a una unidad de mapa o centiMorgan. Esta unidad es una distancia relativa y por lo tanto hace posible conocer el orden y la separación relativa de los loci en un cromosoma (Tamarin, 1982; Tamarin, 1996).

El primer mapa cromosómico que se publicó con seis loci del cromosoma X de *Drosophila melanogaster* fue publicado en 1913 por Alfred Sturtevant. Su trabajo fue especialmente importante porque sus resultados respaldan varios conceptos básicos,

entre los que estaba la ordenación lineal de los genes, que apoya la localización de los genes en los cromosomas (Tamarin, 1996).

En resumen, además de lo antes mencionado, los trabajos de Morgan y Sturtevant proponen que debía existir algún mecanismo y momento mediante el cual genes originalmente juntos en los progenitores, después se presentan separados uno del otro en la progenie.

Más adelante se propuso que los quiasmas eran la evidencia citológica de la existencia de un mecanismo de intercambio.

Complejos Sinaptonémicos y Nódulos de Recombinación.

Se considera que el proceso activo de recombinación es mediado por nódulos de recombinación que contienen proteínas y se encuentran en los Complejos Sinaptonémicos (figura 7). Los nódulos contienen enzimas y otras proteínas que ayudan a reunir las asas de cromatina no hermana.

Durante el paquiteno se observan unos pequeños **nódulos de recombinación** de composición proteica, situados en el **Complejo Sinaptonémico** (figura 7). Se asume que en estos nódulos de recombinación, están las proteínas necesarias para que se lleve a cabo el entrecruzamiento y también se ha asumido que esto sucede durante el paquiteno de la profase I de la primera división meiótica (Puertas, 1991; Avers, 1991).

Los quiasmas probablemente son muestras de restos de segmentos del Complejo Sinaptonémico cuando las cromátidas de los cromosomas homólogos estuvieron cercanas o juntas, pero conforme el Complejo se va degradando y desapareciendo en etapas posteriores, se alcanzan a observar esas estructuras en forma de cruz llamadas quiasmas.

Se ha considerado que una vez iniciada, la sinapsis se debe mantener sin interrupción para que pueda suceder el entrecruzamiento. El proceso de apareamiento no se inicia antes de la formación del Complejo Sinaptonémico (CS). El Complejo (figura 7) es una estructura proteica exclusiva de la meiosis. La idea general que se tiene es que los CS

forman una estructura, la cual permite y facilita el acercamiento a todo lo largo de los cromosomas homólogos duplicados después de síntesis del ciclo celular, y organiza la cromatina para facilitar el entrecruzamiento. El Complejo Sinaptonémico estabiliza los cromosomas apareados en estructuras bivalentes después de completar la sinapsis, incrementando así las oportunidades para que suceda el entrecruzamiento. La presencia de un Complejo Sinaptonémico por sí mismo no asegura que se realizará el entrecruzamiento ni la recombinación; sólo hace más probable que se realicen estos eventos en bivalentes apareados establemente. El Complejo participa en la separación de los cromosomas homólogos y en la reducción del nivel de ploidía (Avers, 1991).

El ADN en la interfase del ciclo celular no es visible al microscopio óptico hasta etapas posteriores de la meiosis, cuando los cromosomas se encuentran condensados. El material de los complejos se disgrega al final del paquiteno en la meiosis, observándose por el microscopio electrónico segmentos de complejo cada vez más pequeños hasta su desaparición en la fase del diploteno en la profase I de la meiosis (Puertas, 1991).

El entrecruzamiento requiere del corte y la reunión de cromátidas de cromosomas homólogos, tiene que ser un fino y preciso mecanismo, ya que en caso contrario, se producirían todo tipo de anomalías en los cromosomas.

Recombinación en hongos. *Neurospora crassa*

En algunos hongos las tétradas permanecen ordenadas y aisladas como en el caso de *Neurospora crassa*

Estudios realizados entre las décadas de 1930 y 1940 utilizaron al hongo *Neurospora crassa* como importante organismo experimental debido a la ventaja de poder fácilmente analizar sus ascas o tétradas ordenadas. Este ascomiceto retiene sus cuatro productos haploides de cada meiosis en una especie de saco o vaina llamada asca, dentro de la cual se encuentran las ascosporas haploides de este hongo. El ciclo de vida de este organismo (figura 19) generalmente existe como haploide. Este hongo proporciona una buena oportunidad para estudiar en su interior los productos de la meiosis (Tamarin, 1982; Avers, 1984).

Neurospora, después de la fecundación, entra inmediatamente a meiosis en la que se forman cuatro productos haploides, quedando todos ellos dentro del asca. Posteriormente se da una división mitótica de cada producto, dando lugar a ocho células haploides llamadas ascosporas. En el asca se mantienen las ascosporas haploides en el orden en que se formaron en la meiosis (figura 20) (Klug y Cummings, 1999; Tamarin, 1996).

En *N. crassa* existen dos alelos **A** y **a**, que determinan los dos tipos sexuales, que se llaman **A** y **a**, respectivamente. Las hifas de uno y otro sexo no se distinguen morfológicamente, sino por la capacidad de reaccionar entre sí formando cuerpos fructíferos sexuales. Es decir, el contacto entre hifas de sexo **A** con **A**, o de sexo **a** con **a** no produce cuerpo fructífero, y sí lo produce el contacto de **A** con **a**. Tras la fusión de los núcleos de ambos sexos, se forma un núcleo diploide que contiene 14 cromosomas. El cigoto es el momento del ciclo vital en el que existen núcleos diploides en *Neurospora*, ya que inmediatamente después comienza la meiosis. La meiosis del cigoto sucede dentro del asca, que es una estructura alargada, situada en el interior del cuerpo fructífero, que encierra los productos meióticos en el mismo orden en que se formaron. Los cuatro productos meióticos tienen después una tercera división, ahora mitótica, que da lugar a ocho ascosporas que permanecen encerradas dentro del asca. Cada asca puede ser manipulada y aislada, obteniéndose a partir de ella las ocho ascosporas en el orden en que se formaron (Puertas, 1991).

Entre las características que se pueden estudiar y analizar de este organismo se encuentran las siguientes. Una es el color de los conidios, que pueden ser sin color (albinos) o de color anaranjado en el tipo silvestre. Otra posible característica es la morfología de las colonias, para la cual se conocen dos fenotipos diferentes, uno normal de apariencia esponjosa y otra más compacta, denominada colonial (Griffiths *et al*, 2002).

Según estudios realizados en *Neurospora crassa*, si se entrecruzan un cultivo esponjoso y anaranjado con otro colonial y albino de tipo sexual contrario y se aíslan y cultivan 100 ascosporas, se encontró lo siguiente.

En total, la mitad de la descendencia es esponjosa y la mitad colonial. Por tanto, esta diferencia fenotípica debe estar determinada por dos alelos de un mismo gen y en el mismo cromosoma que han segregado igualmente en la meiosis. A estos se les puede llamar alelos *col⁺* (esponjoso) y *col* (colonial). Lo mismo es cierto para el otro carácter, la mitad son de color (anaranjado) y la otra mitad no tienen color son albinos, de modo que la diferencia fenotípica en el color está también determinada por una distinta pareja de alelos que se le puede llamar *a⁺* (anaranjado) y *a* (albino) (Griffiths *et al*, 2002).

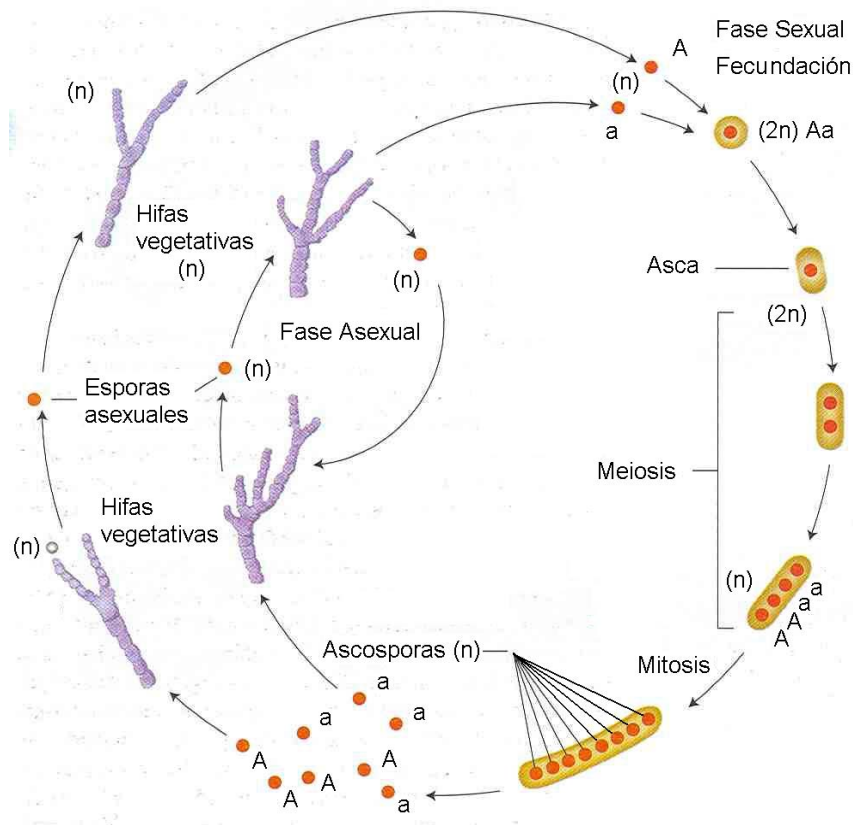


Figura 19 Ciclo de vida de *Neurospora crassa* (imagen de Tamarin, 1996)

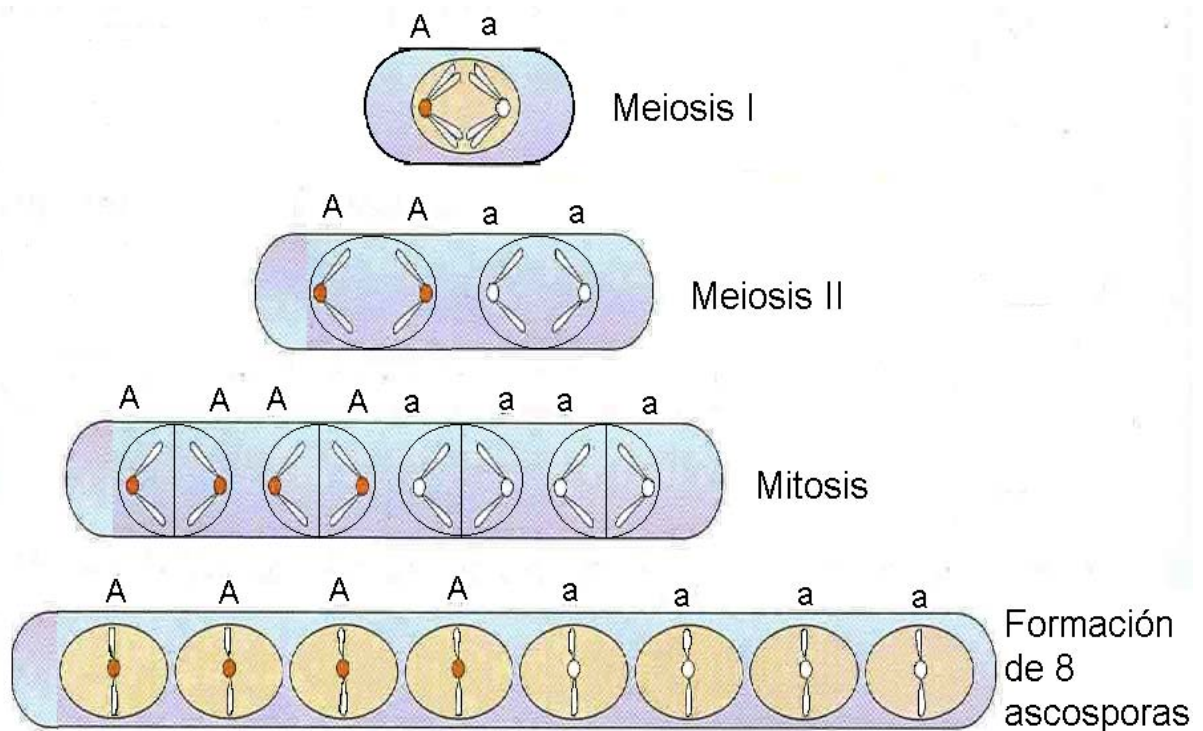
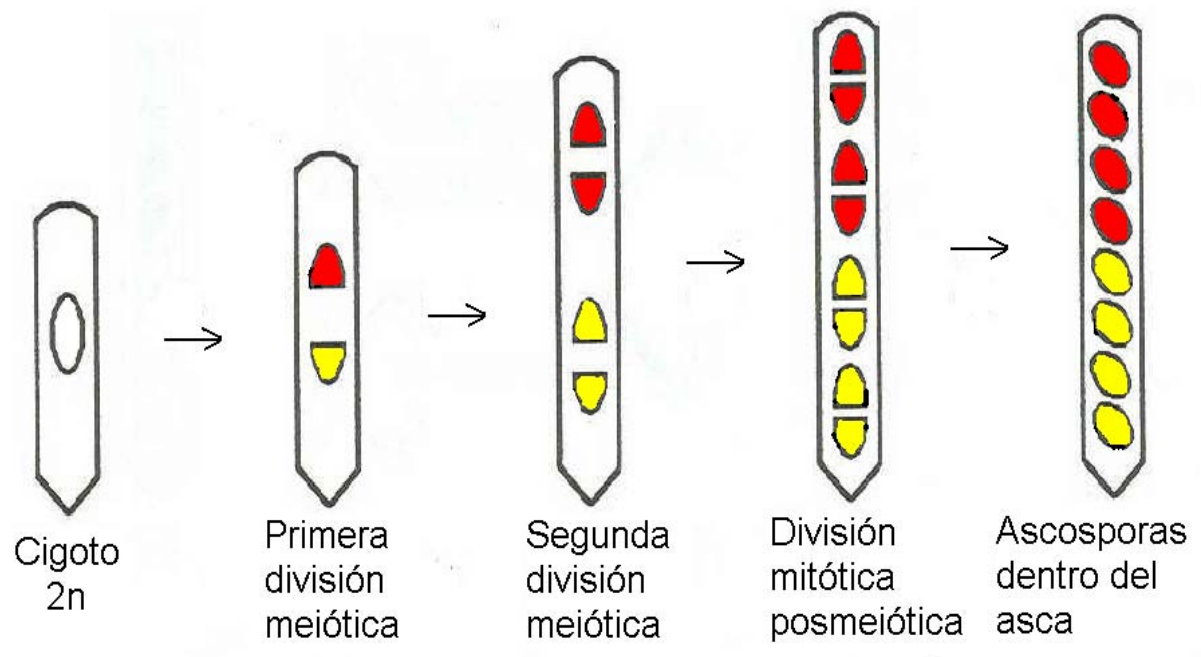


Figura 20 Tipos de divisiones meiótica y mitótica en la formación de las esporas de *Neurospora crassa* (imagen de Tamarin, 1996)

Análisis de tétradas. Ligamiento y Recombinación

Neurospora es un organismo el cual muestra que los entrecruzamientos suceden en dos de las cuatro cromátidas en la meiosis (figura 21). De manera natural las esporas de *Neurospora* son ordenadas (Tamarin, 1982).

El orden en el cual las esporas están arregladas linealmente provee la evidencia que postula los eventos de entrecruzamiento cromosómicos (Avers, 1984).

Después de haberse estudiado las teorías de tipo de ligamiento cromosómico: completo, incompleto e independiente, se tiene evidencia de que el ligamiento es incompleto debido a que si fuera completo siempre se tendría el mismo arreglo genético de padres a hijos y al ser incompleto, nos permite tener nuevos arreglos genéticos, unos iguales a los parentales y otras nuevas combinaciones, diferentes, con lo que se prueba el tipo de ligamiento incompleto.

Los estudios de *Neurospora* han confirmado que en cada evento de entrecruzamiento participan dos de las cuatro cromátidas de los cromosomas homólogos, es decir, en la etapa de cuatro cadenas o 4 cordones (figura 21). Esto significa, que para que en *Neurospora* se puedan encontrar ascas conformadas con esporas 50% de tipo parental y 50% de tipo recombinante, la recombinación tuvo que suceder después de la duplicación del ADN o de la etapa de síntesis del ciclo celular.

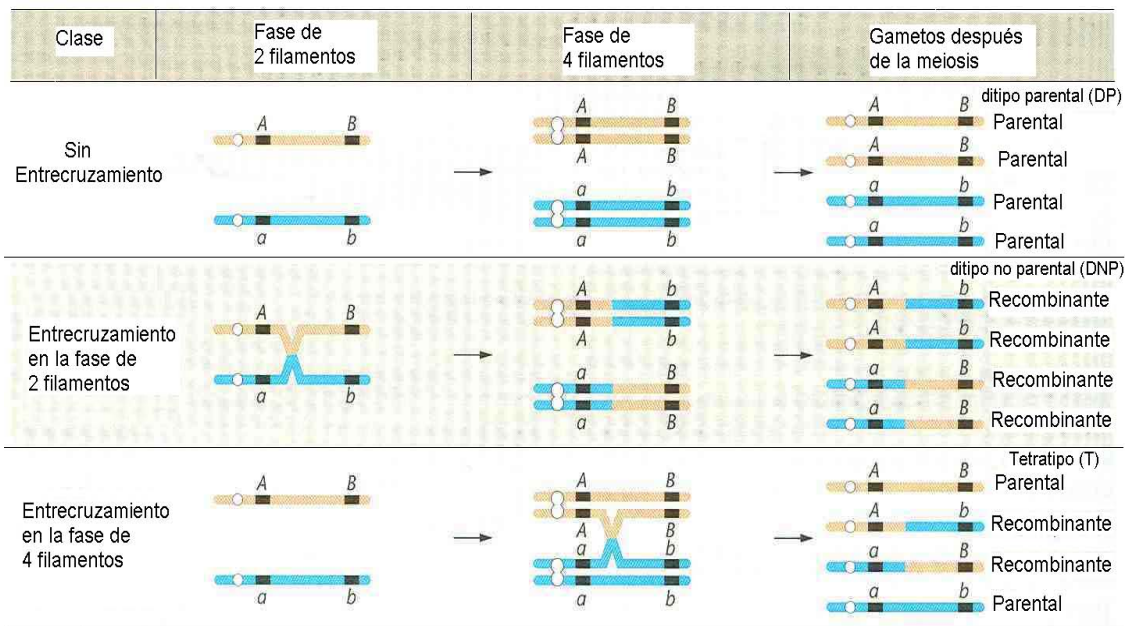


Figura 21 Análisis de tétradas que proporcionan evidencias que el entrecruzamiento sucede en la fase de 4 filamentos (4 cromátidas) (imagen de Klug y Cummings, 1999).

Análisis de locus de tétradas con esporas ordenadas

En anafase I puede haber dos tipos de orientación: el cromosoma que lleva A puede ir hacia arriba o hacia abajo; si va hacia arriba, los dos núcleos de arriba en anafase II llevarán A y, por lo tanto, las cuatro ascosporas de arriba serán A y las de abajo serán a. Si va A hacia abajo sucederá lo contrario. En la figura 22 se representan en oscuro las ascosporas de tipo **A** y en claro las de tipo **a**. Estos dos tipos de tétradas, en los que hay una segregación 4:4 se llaman tétradas directas (D) (figura 22-a) (Puertas, 1991).

Cuando se ha dado un entrecruzamiento entre el centrómero y el locus considerado, los dos cromosomas que se separan en anafase I son parecidos: llevan **A** en una cromátida y **a** en la otra, pero esos dos cromosomas pueden separar sus cromátidas en anafase II de cuatro formas diferentes, produciéndose los cuatro tipos de ascas. Estas ascas de segregación 2:2:2:2 o 2:4:2 se llaman tétradas inversas (figura 22-b) (Puertas, 1991).

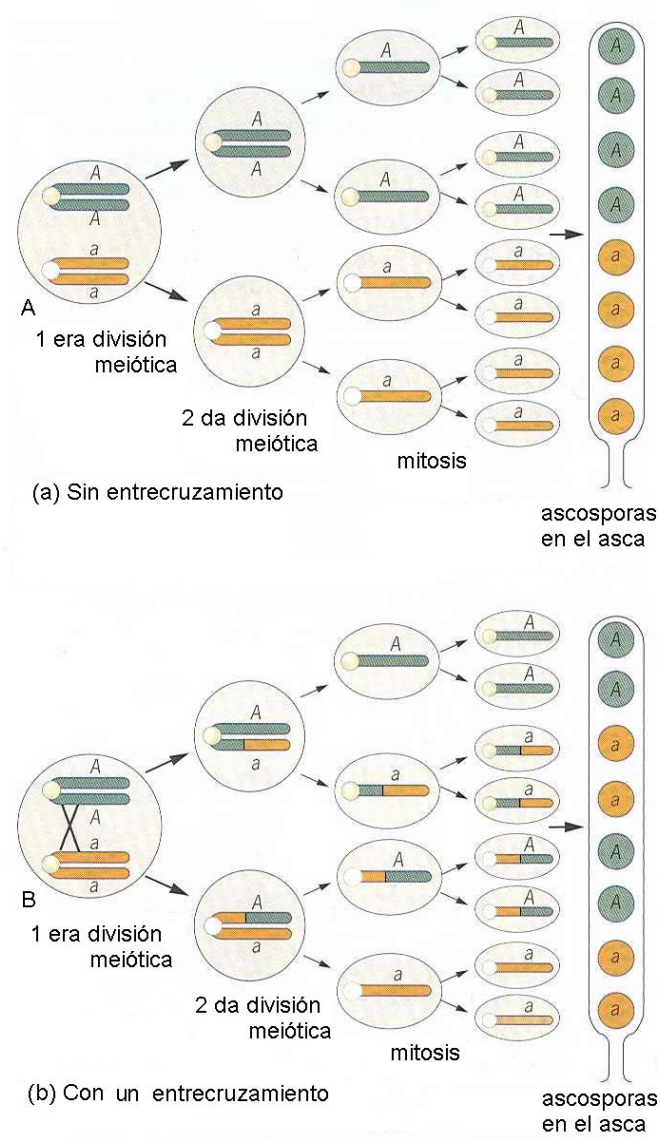


Figura 22 Patrón de segregación de esporas en *Neurospora*. Dependiendo de la primera o segunda división de la meiosis resultado de la ausencia (22 a) o del hecho de un entrecruzamiento (22 b) (imagen de Snustad *et al*, 1997).

Análisis de dos loci en tétradas con esporas desordenadas

En el análisis de dos loci en tétradas se encontró que en un entrecruzamiento $AB \times ab$ en un organismo que forma tétradas se observaron los tres tipos de ascas que pueden generarse (Tamarin, 1996).

Considerando el supuesto de que ambos loci estuvieran situados sobre cromosomas diferentes, y que no se diera entrecruzamiento entre el centrómero y ninguno de los loci

considerados. Se pueden presentar tres tipos de patrones. El primero de ellos, es aquel en el que se forman dos tipos de tétradas; el ditipo parental (DP), que contiene esporas AB y ab que son idénticas a la composición genética de las esporas parentales haploides. La segunda clase llamada ditipo no parental (DNP), que contiene dos tipos de esporas Ab y aB, diferentes al genotipo de los parentales. La tercera clase llamada tetratipo (T) en que se forman tétradas que tienen los cuatro tipos posibles de combinaciones de esporas genéticamente diferentes entre sí AB, Ab, aB y ab (figura 21) (Puertas, 1991; Tamarin, 1996; Klug y Cummings, 1999).

En una tétrada tetratipo dos de los cuatro productos meióticos son recombinantes (Ab y aB) y dos parentales (AB y ab), mientras que en la tétrada DNP todos los productos son recombinantes (Ab y aB) (Puertas, 1991).

En el caso de que ambos loci estén ligados en el mismo cromosoma, se observa que las tétradas son de ditipo parental (DP) cuando no hay entrecruzamiento entre los dos genes. Las tétradas de ditipo no parental (DNP) aparecen cuando hay un entrecruzamiento sencillo en la etapa en la que participan dos de las cuatro cromátidas. Las tétradas tetratipo (T) se pueden originar de dos formas posibles. Aparecen cuando sólo hay un entrecruzamiento en uno de los cromosomas o cuando sucede un tipo alternativo de doble intercambio entre los dos genes (figura 21) (Puertas, 1991; Klug y Cummings, 1999).

En resumen, la importancia de los estudios realizados con *Neurospora crassa* demostraron lo siguiente: al realizar un entrecruzamiento de este hongo AB (paterno) * ab (materno) y relacionando el tipo de asca con la etapa del ciclo celular, se encontró que solo después de duplicado el ADN se halló el tipo de arreglo tetratipo (T) (AB, Ab, aB, ab). En el cual, de las cuatro ascas, dos son ditipo parental (DP) (AB, ab) y las otras dos son ditipo no parental (DNP) (Ab, aB) es decir, éstas últimas son recombinantes. Con lo cual se demostró que la recombinación se lleva a cabo después de síntesis (S) del ciclo celular. Pues antes de S en G₁ del ciclo celular, solo se obtuvieron ascas con arreglos DNP (Ab, aB) (figura 21) .

Trabajos de Stern (en la mosca de la fruta: *Drosophila melanogaster*), Creighton, y Mc Clintock (en maíz: *Zea mays*), como algunos ejemplos de evidencias citológicas de los intercambios de cromosomas en el entrecruzamiento.

La propuesta de Morgan de que los intercambios de cromosomas conducen a la recombinación genética fue probada y verificada en posteriores estudios, trabajos y artículos publicados. Ambos estudios demostraron que los individuos genéticamente recombinantes poseían cromosomas homólogos físicamente intercambiados.

Para determinar si los intercambios físicos suceden en realidad, los cromosomas homólogos tuvieron que ser alterados físicamente de tal manera que cada homólogo fuera fácilmente reconocible y relacionado con los alelos que llevaba.

El análisis citológico de Curn Stern en *Drosophila melanogaster*, y de Harriet Creighton y Bárbara Mc Clintock en *Zea mays*, demostraron de manera independiente, mediante pruebas visuales, que el entrecruzamiento es un intercambio físico entre los cromosomas homólogos (Klug y Cummings, 1999).

La correlación entre cromosomas intercambiados físicamente y nuevas combinaciones alélicas proporcionaron pruebas claras en apoyo a la hipótesis de que el entrecruzamiento implica un intercambio físico de segmentos de cromosomas homólogos y que este intercambio es el mecanismo de la recombinación genética que implica a los genes ligados (Avers, 1991).

En 1931, Harriet Creighton y Bárbara Mc Clintock estudiaron dos genes ligados o loci en el cromosoma 9 del maíz: uno de los loci afectaba al color del endospermo de la semilla (*C* coloreado; *c* incoloro) y el otro locus afectaba a la composición de carbohidratos del endospermo de la propia semilla del maíz (*Wx* almidonoso, *wx* ceroso) (Griffiths *et al*, 2002; Klug y Cummings, 1999).

La recombinación debería implicar un intercambio de partes físicas de los cromosomas homólogos. Esto se puede demostrar si podemos distinguir los dos cromosomas homólogos entre sí, un método utilizado por primera vez por Creighton en el maíz .

Se obtuvo una planta de maíz heterocigótica para ambos loci. La clave del experimento fue que uno de los homólogos tenía dos marcadores citológicos especiales. Los marcadores consistían en un abultamiento en un extremo del cromosoma, que se teñía fuertemente y en el otro extremo de un trozo translocado de otro cromosoma (figura 23).

Este cromosoma traslocado y con abultamiento era claramente distinguible de su homólogo normal. También era portador del alelo dominante (C, coloreado) y del recesivo (wx, ceroso). En los estudios cartográficos se estableció que C estaba muy próximo al abultamiento y Wx estaba cerca de la porción añadida de cromatina, Creighton y Mc Clintock llevaron a cabo el entrecruzamiento. La planta dihíbrida con cromosomas heteromórficos se cruzó con una planta homomórfica normal (solo con cromosomas normales) que tenía el genotipo $c Wx/c wx$ (fenotipo incoloro y almidonoso). Si durante la meiosis del heteromorfo se diese un entrecruzamiento en la región entre C y wx, habría también un entrecruzamiento físico, visible citológicamente (con el microscopio): el abultamiento pasaría a estar asociado a un cromosoma normal en el otro extremo y la porción de cromatina extra iría a parar a un cromosoma sin abultamiento (figura 23) (Tamarin, 1996).

Creighton y Mc Clintock cruzaron esta planta con una homocigótica para el alelo para color (c) y heterocigótica para el tipo de carbohidrato de la semilla. Entre los descendientes obtuvieron una serie de fenotipos distintos, aunque su interés principal fue en uno que se daba como consecuencia del entrecruzamiento entre los cromosomas con los marcadores citológicos. Se examinaron los cromosomas de esta planta, de fenotipo incoloro y ceroso para ver los marcadores citológicos. Tal como se esperaba, si el entrecruzamiento va acompañado por intercambio físico entre los homólogos, se observaría el cromosoma translocado, pero no el abultamiento. Y eso fue lo que se observó. En otra planta de maíz, el fenotipo coloreado y almidonoso puede ser el resultado bien de gametos sin recombinar o de gametos recombinados. Si

fuera así, algunos de los casos deberían tener cromosomas con el abultamiento, pero sin el cromosoma translocado (Klug y Cummings, 1999).

Creighton y Mc Clintock concluyeron lo siguiente: “Se demostró que cromosomas apareados heteromórficos en dos regiones intercambian segmentos a la vez que intercambian genes asignados a estas regiones” (Tamarin, 1996).

Las evidencias en los trabajos de Creighton y Mc Clintock apoyaron la conclusión de que había tenido lugar un intercambio físico entre segmentos de ADN de algunos genes. Hechos similares encontró Stern utilizando a *Drosophila melanogaster* (Klug y Cummings, 1999).

Estos estudios experimentales de Mc Clintock tienen relación con el posterior modelo de recombinación propuesto por Holliday en el sentido de que entrecruzamiento que da lugar a la recombinación, efectivamente es un intercambio físico de diferentes segmentos de ADN, que dan como resultado una nueva molécula recombinante diferente genéticamente de la parental que le dio origen.

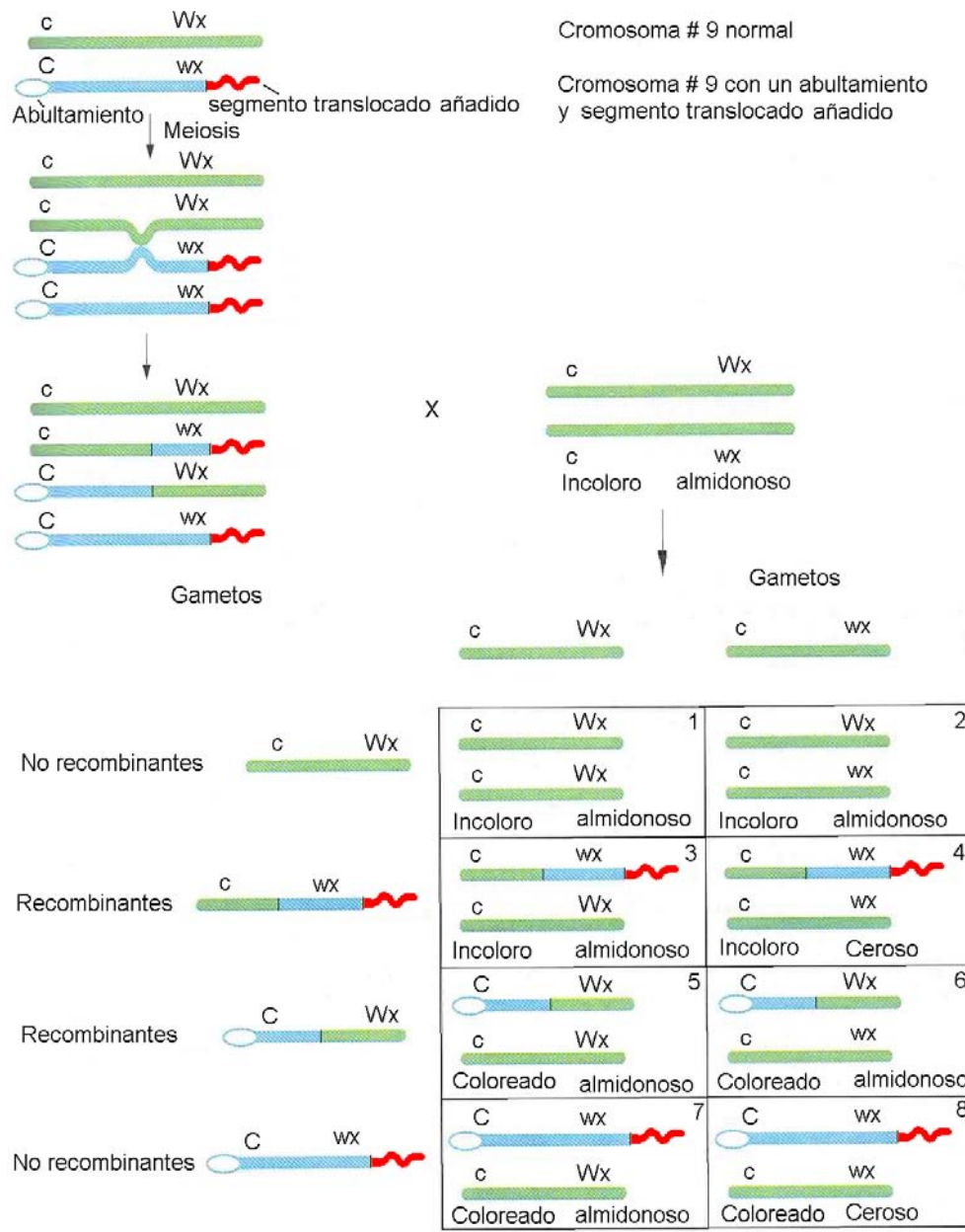


Figura 23 Fenotipo y estructura de los cromosomas observados en el experimento de Creighton y Mc Clintock que demuestran que el entrecruzamiento es un proceso físico de rompimiento y unión de segmentos de ADN (imagen modificada de Tamarin, 1996).

Genes ligados del cromosoma 9 del maíz

- C** Gen cuya expresión de proteína está relacionada con el color del endospermo de la semilla
- c** Gen cuya expresión de su proteína no produce color (incolora) del endospermo de la semilla
- Wx** Composición de carbohidratos del endospermo de la semilla de tipo almidonoso
- wx** Composición de carbohidratos del endospermo de la semilla de tipo ceroso

Algunos importantes tipos de recombinación son:

- 1.- Recombinación Homóloga (Meiosis) (Modelo de Holliday).
- 2.- Recombinación Mitótica.

Recombinación Homóloga

De los mecanismos de reparación del ADN, **la recombinación homóloga**, es uno de los más importantes. Este es el proceso por el cual dos moléculas de ADN de doble cadena de cromosomas homólogos, pueden entrecruzarse para crear moléculas de ADN con un nuevo arreglo genético (figuras 24, 25-a y 25-b).

Las siguientes **características** son probablemente **comunes** a la **recombinación homóloga** en todas las células (Alberts *et al*, 2006).

Las moléculas de ADN pueden entrecruzarse, ambas cadenas de cada doble hélice tienen un rompimiento y los extremos rotos se vuelven a unir a los extremos de las moléculas de ADN opuestas para formar dos dobles hélices.

Estos sitios de intercambio donde una doble hélice se rompe y se vuelve a unir a otra doble hélice, pueden producirse en cualquier lugar en la secuencia de nucleótidos homóloga de las dos moléculas de ADN que participan.

La **recombinación homóloga** entre moléculas de ADN se basa en un grupo de enzimas que pueden cortar, realinear y unir a sus cadenas. Durante el proceso de síntesis de ADN, la doble hélice se desenrolla y se forma una horquilla de duplicación en la que se inicia la síntesis. Hay proteínas que estabilizan la hélice desenrollada y ayudan a relajar la tensión del enrollamiento que se produce por delante de la actividad de duplicación del ADN.

La **recombinación homóloga** comienza con dos duplex (cadenas de ADN) emparejadas homólogas, cada uno de ellos con un corte en una de las cadenas en los mismos sitios o lugares de las cadenas de ADN llevados a cabo por endonucleasas.

Estas enzimas pueden cortar una o simultáneamente ambas cadenas en la doble hélice y crean una fractura completa en la molécula de ADN. Los extremos 5' son luego digeridos por una exonucleasa y se forman extremos 3' de cadena simple que sobresalen. Cada una de estas cadenas simples se asociará con una hélice de ADN complementaria homóloga y luego llevará a la formación de nuevas moléculas de ADN. La DNA polimerasa comienza la acción de polimerización añadiendo nucleótidos libremente para hacer cadenas sencillas y finalmente aquellos espacios o huecos en los nucleótidos son unidos nuevamente por medio de DNA ligasas de modo que las dos moléculas de ADN se mantienen juntas físicamente mediante el entrecruzamiento de cada una de sus cadenas. En la recombinación homóloga hay una especie de intermediario o más bien hay un intercambio cruzado o unión de Holliday (25-a y 25-b) (Avers, 1984; Klug y Cummings, 1999; Alberts *et al*, 2006).

La posición de estos puntos de intersección pueden moverse a lo largo de la molécula de ADN, proceso al que se conoce como desplazamiento del punto de intersección. Esto sucede como consecuencia de un efecto de cremallera por el que los puentes de hidrógeno se rompen y se vuelven a formar entre bases complementarias de las cadenas separadas de cada dúplex (Klug y Cummings, 1999).

Posteriormente, la estructura de intercambio cruzado o unión de Holliday puede experimentar una serie de movimientos de rotación de tal manera que las dos cadenas originales que no se entrecruzan llegan a hacer entrecruzamiento, y viceversa. Si las cadenas entrecruzadas son cortadas después de la rotación, una sección de cada hélice de ADN original se unirá a una sección de la otra hélice de ADN; es decir, las dos moléculas de ADN han experimentado un entrecruzamiento y se han producido dos nuevas moléculas con nuevas secuencias de ADN.

El **entrecruzamiento cromosómico** (figuras 24, 25-a y 25-b) que se lleva a cabo cuando los cromosomas homólogos se unen, lleva a que se intercambien fragmentos de ADN, lo cual genera nuevas combinaciones de secuencias de ADN en cada cromosoma. El beneficio de esta mezcla génica es grande para la descendencia de los organismos y en la redistribución de genes mediante recombinación. La recombinación

no está limitada a los organismos eucariontes de reproducción sexual, también se presenta en los organismos que se reproducen asexualmente, como por ejemplo las bacterias (Alberts *et al*, 2006).

Resumido mecanismo prototipo para la recombinación genética (por rompimiento en una de las cadenas del ADN) (figura 24)

a) Se muestran dos dobles hélices del ADN. Cada pareja representa una cromátida y las dos parejas representan dos cromátidas no hermanas (homólogas). Las hélices están alineadas de forma que la cadena 2 de la primera hélice de ADN (en claro) tiene la misma polaridad que la cadena 3 de la segunda hélice (en oscuro). b) Se cortan las dos cadenas paralelas de la misma polaridad. c) Los extremos libres se asocian con las cadenas complementarias de la doble hélice homóloga. c) La unión produce dobles hélices parcialmente heterodúplex, la estructura de Holliday. d) La migración del punto de intersección se produce por intercambio continuo entre las dos cadenas polinucleótídicas que forman parte en el entrecruzamiento. e) Finalmente se obtienen cadenas de ADN con un nuevo arreglo genético (recombinantes) (figura 24) (Griffiths *et al*, 2002).

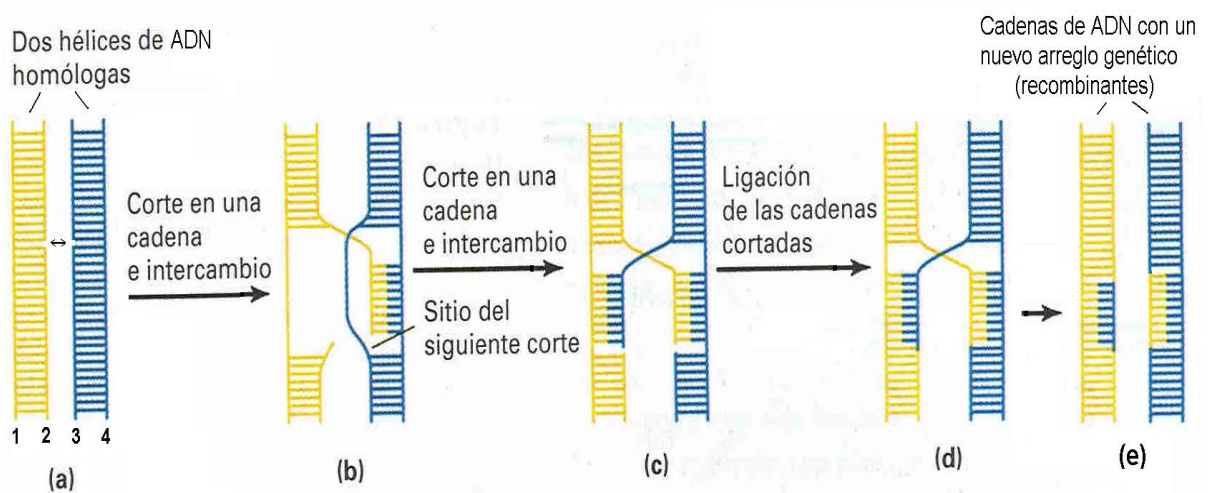


Figura 24 Resumido mecanismo prototipo de recombinación genética (por rompimiento en una de las cadenas de ADN) (imagen modificada del Griffiths *et al*, 2002)

Modelo de Recombinación Homóloga de Holliday

Existen varios modelos que intentan explicar la **recombinación homóloga**, aunque todos ellos tienen como base las propuestas iniciales de Robin Holliday y Harold Whitehouse (Klug y Cummings, 1999).

Holliday y Whitehouse propusieron en 1964 su modelo de recombinación (figuras 24, 25-a y 25-b) el cual actualmente es uno de los más aceptados.

Holliday propuso el modelo molecular de conversión génica que actualmente es el más aceptado como modelo general de recombinación. El intermediario de recombinación se llama intermediario de Holliday en su honor. Los estudios teóricos sobre el modelo de Holliday demostraron que con algunas modificaciones, incluyendo las realizadas posteriormente por el propio Holliday, el modelo teóricamente es válido. Los modelos experimentales que confirmaron la aceptación general del modelo de Holliday fueron las obtenidas por Potter y Dressler en 1976 al observar los intermediarios de Holliday en el microscopio electrónico (Puertas, 1991).

Algunas de las características más importantes del modelo de recombinación Homóloga de Holliday (figuras 24, 25-a y 25-b) son la formación de un ADN heterodúplex, la creación de un punto de intersección, su desplazamiento a lo largo de las dos cadenas de ADN, fenómeno denominado migración del punto de intersección, la reparación de emparejamientos erróneos y la posterior resolución o empalme de la estructura intermedia para dar lugar a diferentes tipos de nuevas moléculas recombinantes (figura 25-b) (Griffiths *et al*, 2002).

Modelo Básico de Recombinación Homóloga de Holliday (por rompimiento en una de las cadenas del ADN) (basado en figuras 24, 25-a y 25-b).

El ADN de cada uno de las 2 moléculas de ADN homólogas se indican en distintos colores. Posteriormente hay alineación y rompimiento (endonucleasas) en una cadena

de cada una de las 2 moléculas de ADN homólogas, en las mismas posiciones (participan Ssb, helicasas, topoisomerasas, etc). Después hay intercambio con la cadena homóloga de la otra molécula de ADN y hay también unión o apareamiento de bases entre 2 moléculas de ADN homólogas que se recombinan teniendo la misma polaridad (DNA polimerasa). El intercambio forma un punto de intersección o estructura de Holliday. El intercambio de cadenas entre los ADN ocurre a lo largo del ADN. En un punto específico, las cadenas intercambiadas se rompen nuevamente. Finalmente se unen y resellan (por DNA ligasas), completando el intercambio y la recombinación de los fragmentos de ADN y/o genes, dando como resultado cadenas de ADN con un nuevo arreglo genético.

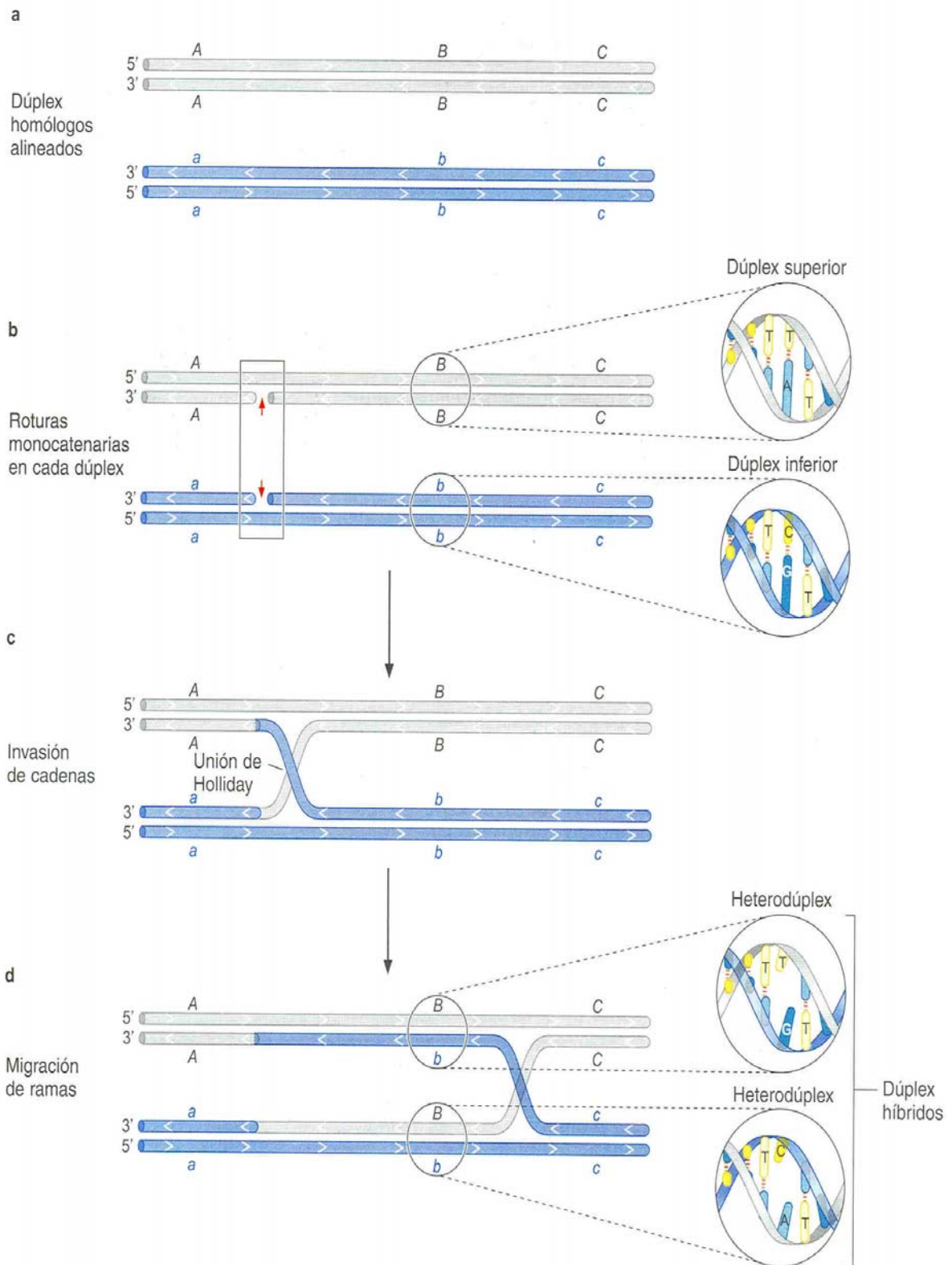


Figura 25-a Modelo de Recombinación de Holliday (por rompimiento en una de las cadenas del ADN) (imagen de Watson *et al*, 2005).

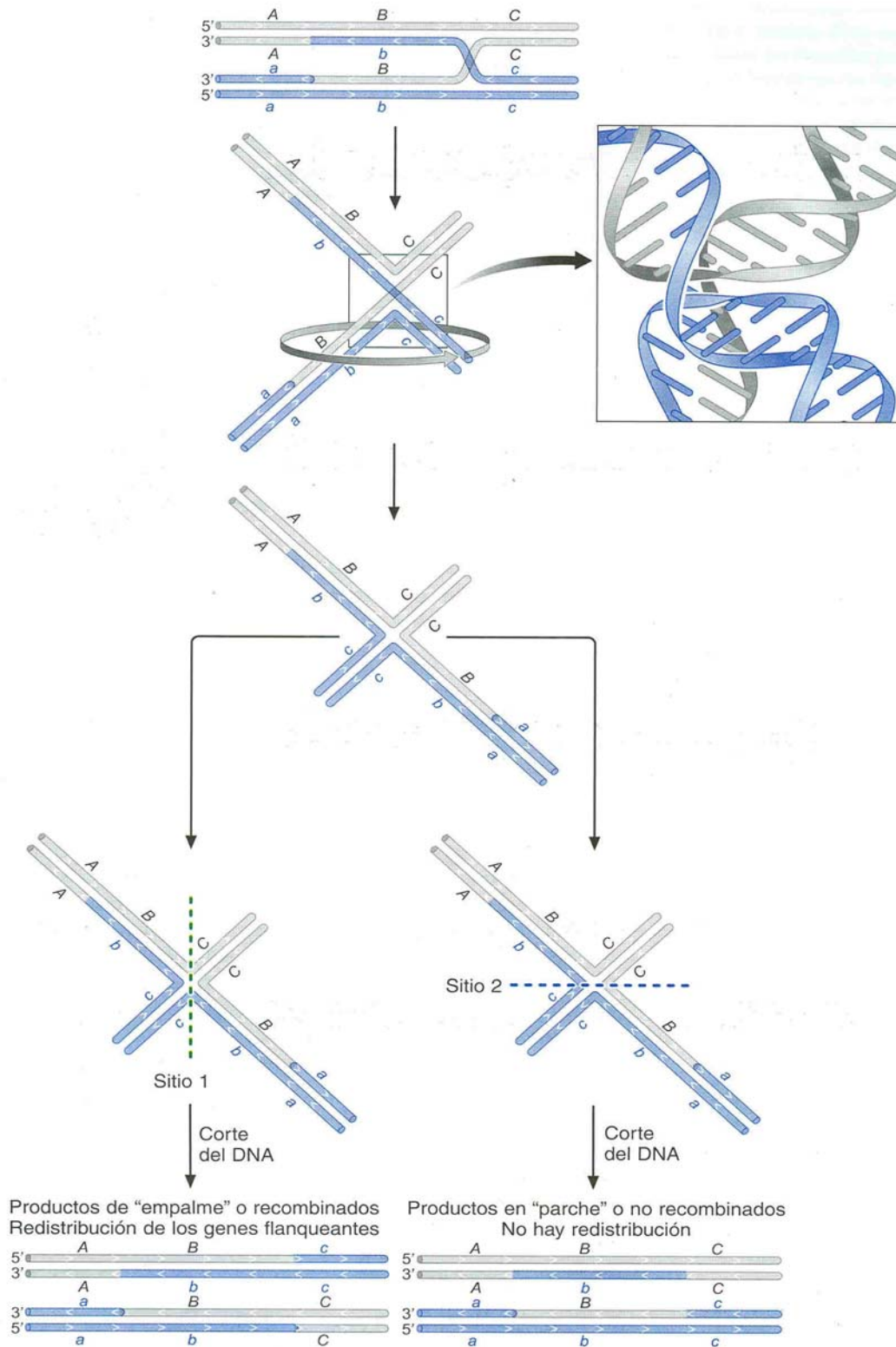


Figura 25-b Modelo de Recombinación de Holliday (por rompimiento en una de las cadenas del ADN) (imagen de Watson *et al*, 2005).

Recombinación por rompimiento en la doble cadena de ADN

Algunos mutágenos como la radiación ionizante producen rompimientos de doble cadena en el ADN. Una célula que tuvo un rompimiento particular de la doble hélice contiene casi siempre también otros rompimientos. Estas son lesiones muy severas porque la acción de reconexión de las dos cadenas de ADN puede conducir a peligrosos reordenamientos cromosómicos y translocaciones como las que producen un gen híbrido o someten un gen regulador del crecimiento al control de promotores diferentes. Las células B y T del sistema inmunológico son particularmente susceptibles a los reordenamientos del ADN producidos por rompimientos bicatenarios, creados durante los reordenamientos de sus genes de inmunoglobulinas o de receptores de células T, lo que explica la frecuente participación de éstos loci genéticos en leucemias y linfomas (Lodish *et al*, 2005).

Dos sistemas han evolucionado para reparar los rompimientos en las dos cadenas del ADN: **recombinación homóloga** y **unión de extremos de ADN**. El primero se emplea durante la duplicación del ADN y después, cuando la cromátida hermana está disponible para utilizarse como patrón para reparar la hebra de ADN dañada; la recombinación homóloga es libre de errores. El mecanismo alternativo, **la unión de extremos de ADN**, es propenso a errores puesto que invariablemente se pierden varios nucleótidos en el punto de reparación. Se cree que este y otros sistemas de reparación amortiguan gran parte, aunque no todos, los efectos carcinogénicos de mutágenos químicos y las radiaciones (Lodish *et al*, 2005).

En la década de 1990, por medio de técnicas bioquímicas sensibles para determinar la estructura real de los intermediarios de la recombinación que se forman en los cromosomas de levadura en diferentes etapas de la meiosis, revelaron que la recombinación general incluyendo a la recombinación por doble rompimiento de la cadena del ADN se inicia mediante una endonucleasa especial que corta simultáneamente ambas cadenas de la doble hélice de ADN, generando un rompimiento completo en este. A continuación una exonucleasa genera dos extremos 3' en cada cadena sencilla. Son precisamente esos extremos de cadena sencilla los que buscan una hélice de ADN homólogo con el que aparearse, llevando a la

formación de una “molécula de unión” entre el cromosoma materno y el paterno. La molécula de unión que se forma puede resolverse posteriormente por cortes selectivos en la cadena, produciendo dos cromosomas que se han entrecruzado (figura 26) (Alberts *et al*, 2004).

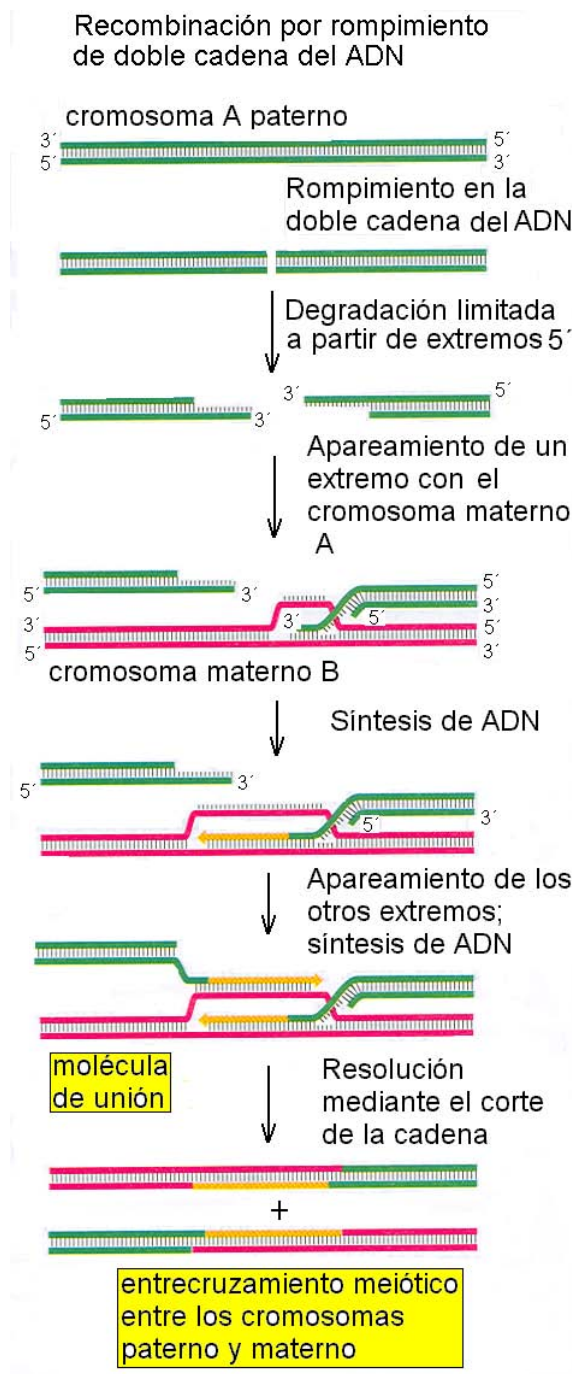


Figura 26 Recombinación por rompimiento en doble cadena del ADN (imagen de Alberts *et al*, 2004).

Reparación por rompimiento de doble cadena del ADN mediante la unión de extremos

En los organismos multicelulares, el mecanismo predominante para reparar rompimientos bicatenarios implica reconectar los extremos no homólogos de dos moléculas de ADN. Aun si los fragmentos de ADN unidos provienen del mismo cromosoma, el proceso de reparación lleva a la pérdida de varios pares de bases en el punto de unión. La formación de tal deleción posiblemente mutagénica es un ejemplo de cómo la reparación del daño del ADN puede introducir mutaciones. El movimiento del ADN dentro del denso núcleo celular con la presencia de gran cantidad de proteínas es prácticamente mínimo, los extremos correctos casi siempre se reconectan, aunque con la pérdida de pares de bases. Sin embargo, en ocasiones los extremos rotos de diferentes cromosomas se conectan y se produce la translocación de pedazos de ADN de un cromosoma a otro. Tales translocaciones pueden generar oncogenes o colocar un protooncogen junto a un promotor de otro gen y, por tanto, bajo el control inapropiado de éste. Los rompimientos de doble hélice del ADN se pueden llegar a convertir en peligrosos, y de igual manera también sus resultados y consecuencias (Lodish *et al*, 2005). La reparación de los rompimientos de doble hebra mediante la vía de unión de extremos puede unir segmentos de ADN de diferentes cromosomas y formar posiblemente una translocación oncogénica (Lodish *et al*, 2005).

Existen dos mecanismos cuando las dos cadenas de ADN se rompen, la **unión de extremos** para mejorar este daño potencial. El más sencillo es la **unión de extremos no homólogos** (figura 27-A), en el cual los extremos rotos se yuxtaponen y se vuelven a unir mediante la unión del ADN, generalmente con la pérdida de uno o más nucleótidos en el punto de unión.

En la reparación por rompimiento de doble cadena del ADN mediante **la unión de extremos no homólogos** sucede lo siguiente: En general se confrontan secuencias nucleotídicas que no se yuxtapusieron en el ADN intacto. Estos extremos de ADN suelen pertenecer al mismo locus cromosómico y cuando se conectan se pierden varios pares de bases. En ocasiones, se unen accidentalmente los extremos de cromosomas

diferentes. Un complejo de proteínas se une a los extremos de un rompimiento de la doble cadena. Después de la formación de una sinapsis, los extremos son procesados mediante nucleasas, lo que lleva a la eliminación de unas cuantas bases y las dos moléculas bicatenarias se ligan entre sí. Como consecuencia, el rompimiento de doble cadena queda reparada, pero varios pares de bases en el sitio del corte se han perdido (figura 27-A) (Lodish *et al*, 2005).

Otro tipo de reparación de rompimientos de la doble hélice todavía más efectivo aprovecha el hecho de que las células diploides contienen dos copias de cada doble hélice. En **la unión de extremos homólogos** (figura 27-B) se recurre al mecanismo de recombinación general para transferir la información de la secuencia de nucleótidos desde una doble cadena de ADN intacta al lugar del rompimiento de la otra doble cadena. Esto requiere proteínas de recombinación que reconozcan áreas de la secuencia de ADN que coincidan en los dos cromosomas y que las acerquen. A continuación, se repara el cromosoma dañado sin que se haya producido ningún cambio en la secuencia de ADN, mediante un proceso de duplicación del ADN en que se utiliza el cromosoma no dañado (cromosoma homólogo) como patrón para transferir la información genética al cromosoma roto. En las células que han duplicado su ADN pero que aún no se han dividido, este tipo de reparación del ADN puede darse rápidamente entre las dos moléculas hermanas de ADN en cada cromosoma (Alberts *et al*, 2004).

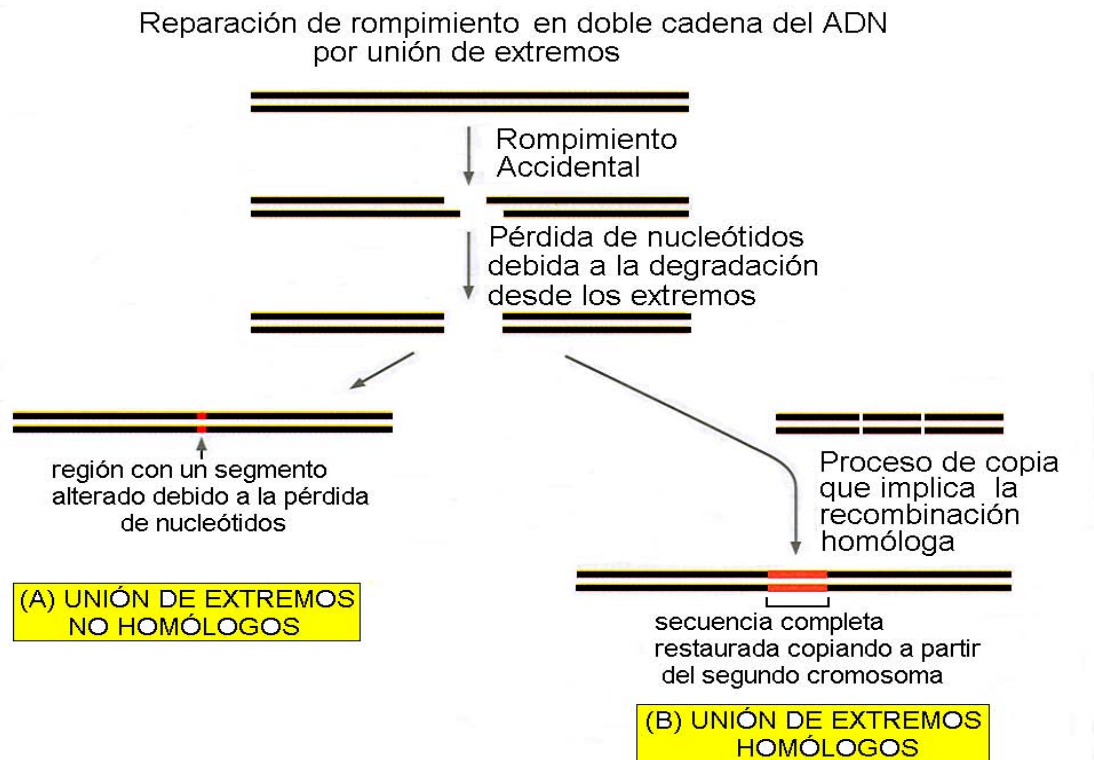


Figura 27. Reparación por rompimiento en doble cadena del ADN por unión de extremos homólogos y no homólogos (imagen de Alberts *et al*, 2004).

Recombinación mitótica: Entrecruzamiento somático

Se sabe que el entrecruzamiento tiene lugar no solo en la meiosis sino también en la mitosis en las células somáticas.

El entrecruzamiento mitótico es relativamente poco común. En el hongo *Aspergillus nidulans*, el entrecruzamiento mitótico sucede en una de cada 100 divisiones celulares.

En 1936, Curt Stern demostró que no siempre se produce la mitosis, debido a un fenómeno de no disyunción, es decir, la no separación de los cromosomas durante este proceso, y por lo tanto a la falta de un **mosaico**. Este último término se refiere a aquel individuo constituido por tejidos con dos o más genotipos distintos, que suelen reconocerse por presentar fenotipos diferentes.

Al realizar Stern estudios y diferentes tipos de cruzamientos con *Drosophila melanogaster*, como se esperaba, la progenie presentaba una apariencia normal, aunque algunas otras tenían sectores del tejido de las alas de las moscas de color amarillo o con cerdas cortas y rizadas, que podrían explicarse por falta de disyunción o por pérdida cromosómica. Sin embargo, algunas moscas presentaban sectores gemelos. En este caso un sector gemelo estaría constituido por dos manchas adyacentes, de tejido amarillo y la otra de tejido con cerdas cortas y rizadas, en un tejido silvestre. Stern pensó que las dos manchas de cada sector eran adyacentes y sucedían con una frecuencia muy elevada como para ser yuxtaposiciones casuales de manchas individuales, los sectores gemelos deberían ser productos recíprocos de un mismo suceso. Por lo tanto concluyó que este suceso debería haber sido la producción de un entrecruzamiento en un determinado locus y el centrómero durante una división mitótica en la que los cromosomas parentales homólogos se encontraban accidentalmente apareados.

También se han observado sectores gemelos en otras células diploides, incluyendo a las de plantas. Todas estas observaciones pueden ser explicarse por recombinación mitótica, que parece ser un fenómeno generalizado aunque poco frecuente (Susuki, 1992).

En términos generales, la definición de recombinación mitótica es similar a la de recombinación meiótica. La **recombinación mitótica** es aquel proceso que genera una célula hija diploide con una combinación de genes diferente de la presente en la célula diploide parental (Susuki, 1992).

La recombinación mitótica fue descubierta en 1936 por Stern, quien demostró que, aunque en raras ocasiones, también se llevan a cabo intercambios similares al entrecruzamiento en la mitosis (entrecruzamiento somático), en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*. Stern observó la presencia de manchas gemelas en las células somáticas del ala de este insecto. Un par de manchas gemelas lo explicó e interpretó como un entrecruzamiento mitótico. Este descubrimiento, el primero en

demostrar la recombinación mitótica, se consideró raro debido a que los cromosomas homólogos normalmente no se aparean en la mitosis en la mayoría de los organismos. Sin embargo, tal sinapsis parece ser la regla común en *Drosophila*. Desde el descubrimiento de Stern, se ha demostrado que el intercambio genético en la mitosis también es un hecho común en algunos organismos como los hongos: *Aspergillus niger* y *Aspergillus nidulans* (Tamarin, 1982).

En 1958, Pontecorvo describió la recombinación mitótica en el hongo *Aspergillus nidulans*. Aunque el estadio vegetativo es normalmente haploide, algunas células y sus núcleos se fusionan, dando lugar a células diploides que se dividen mitóticamente. Ocasionalmente hay entrecruzamiento en la mitosis entre genes ligados en este estadio diploide (Klug y Cummings, 1999).

En algunos hongos como *Aspergillus nidulans*, el entrecruzamiento mitótico es la mejor fuente de información para el análisis del ligamiento (Puertas, 1991).

En general podemos decir que sí hay recombinación mitótica en algunos organismos. Mientras que hay al menos un intercambio por tétrada en la meiosis, el intercambio mitótico sucede en aproximadamente 1% o menos de las divisiones mitóticas en los organismos que lo presentan (Avers, 1991).

Los estudios de recombinación genética revelan que las células mitóticas realizan entrecruzamiento, pero sólo irregularmente y con menor frecuencia que las células meióticas (Avers, 1991).

A diferencia de la meiosis, en la recombinación mitótica no se conoce que haya Complejo Sinaptonémico y de cualquier manera es exitosa este tipo de recombinación.

No se ha observado una estructura tipo Complejo Sinaptonémico en la profase mitótica

Normalmente los cromosomas homólogos no se aparean o no tienen sinapsis en las células somáticas (*Drosophila* se ha considerado una excepción). Sorprendentemente,

se ha demostrado que entre cromátidas hermanas se dan intercambios recíprocos similares al entrecruzamiento.

Sin embargo, se considera que la recombinación en las células somáticas es consecuencia de la reparación de lesiones a través de mecanismos que implican recombinación.

Algunas importantes semejanzas y diferencias entre los mecanismos de recombinación mitótica y meiótica (tabla 2)

Como importante mecanismo general de la biología y especialmente de la genética de los seres vivos, la recombinación se lleva a cabo en todos los organismos (procariontes y eucariontes). Aunque hay algunas importantes semejanzas y diferencias entre los mecanismos de recombinación meiótica y mitótica, las cuales son las siguientes: para empezar ambos son procesos de recombinación en las cuales existen evidencias de ello, es decir, de rompimiento y de reunión entre diferentes segmentos de ADN. En ambos tipos de recombinación se presentan mecanismos de entrecruzamiento. La recombinación homóloga meiótica se presenta en células germinales mientras que la recombinación mitótica se presenta tanto en células somáticas y germinales. Entre las diferencias están que la recombinación meiótica sólo se realiza en los eucariontes que tienen reproducción sexual. Así también en la recombinación homóloga meiótica participa el Complejo Sinaptonémico ausente en la recombinación mitótica, o simplemente en ésta última no se conoce y no participa.

Tanto la recombinación homóloga meiótica como la recombinación mitótica se llevan a cabo en los cromosomas homólogos de organismos eucariontes.

Finalmente lo más importante es que tanto la recombinación homóloga meiótica como mitótica involucran mecanismos de reparación del ADN, es decir, de conservación en la integridad del material genético (tabla 2)

Tabla 2 Algunas importantes diferencias y semejanzas de la recombinación como mecanismo de cambio y de conservación del ADN

	Recombinación Homóloga Meiótica	Recombinación Mitótica
En procariontes	No hay	Si
En eucariontes	Si	Si
Tipos de división celular en que se presenta	En células germinales	En células somáticas y germinales
Cromosomas homólogos	Si	Si
Cromátidas hermanas	No	Si
Complejo Sinaptonémico	Si presenta	No hay
Presenta entrecruzamiento	Si	Si
Productos de la recombinación	50% de productos parentales y 50% de productos recombinantes en cada tétrada	Productos parentales y productos recombinantes en cada tétrada
Mecanismo de reparación del ADN (conservación en la integridad del ADN, y en el genoma de un organismo)	Si	Si
Mecanismo que proporciona variabilidad o cambio en el material genético	Si	Si

6.6 CAPÍTULO VI

EL CÁNCER

El **cáncer** es un conjunto de enfermedades multifactoriales que pueden afectar a un conjunto de células y tejidos en un organismo. También es considerada principalmente una enfermedad genética que aunque afecta a todo tipo de células lo hace principalmente en las células somáticas. Los mecanismos de vigilancia y control responsable de mantener el número de células en equilibrio con las necesidades del organismo fallan en las células cancerosas y entonces éstas proliferan sin control como resultado de múltiples mutaciones en las células somáticas. Generalmente la presencia y desarrollo del cáncer se debe a la acumulación de varias mutaciones en diferentes genes en una o varias células, que en casos eventuales pierden el control en la regulación y control de su ciclo y proliferación celular. La mayoría de las mutaciones son en células somáticas. Otras mutaciones están presentes en la línea germinal (formas hereditarias de cáncer) y predisponen al individuo a ciertos tipos de cáncer (Passarge, 2001). En una asociación peligrosa, las mutaciones somáticas pueden combinarse con mutaciones hereditarias para causar cáncer (Klug y Cummings, 1999; Lodish *et al*, 2005).

Tanto las mutaciones en oncogenes, como en genes supresores de tumores, contribuyen al desarrollo de células cancerosas mediante la alteración o fallas en los puntos de control (check points) que regulan el ciclo celular y la apoptosis, así como en la pérdida de algún gen regulador o de un segmento importante de este (Griffiths *et al*, 2002). Los tumores pueden evolucionar de benignos a malignos (cancerosos) a medida que poblaciones de células adquieren y acumulan mutaciones (Manson, 2003).

Las alteraciones genómicas asociadas con el cáncer pueden implicar distintos tipos de mutaciones o cambios en el (ADN) como sustituciones, ganancia o pérdida de nucleótidos, etc. Las mutaciones que alteran el genoma de un organismo se consideran un rasgo común y característico de los diferentes tipos de cánceres. Las células cancerosas son genéticamente inestables y presentan una elevada tasa de

mutaciones, así como también tienen anomalías o alteraciones cromosómicas (Klug y Cummings, 1999).

Una mayor tasa de mutación facilita o propicia el desarrollo del cáncer. Esto se puede ver en que en las células cancerosas hay mutaciones en genes clave reguladores del crecimiento y del ciclo celular incluyen inserciones, deleciones y mutaciones puntuales, al igual que translocaciones. La mayoría de las células cancerosas carecen de uno o más sistemas de reparación del ADN, lo cual explica la gran cantidad de mutaciones que acumulan. Más aún, algunos mecanismos de reparación introducen por si mismos errores en la secuencia nucleotídica. La incapacidad de las células tumorales para mantener la integridad genómica lleva a la formación de una población heterogénea de células malignas (Lodish *et al*, 2005).

La mayoría de las células cancerosas humanas no solo tienen muchas mutaciones sino que también son inestables genéticamente. La inestabilidad genética es resultado de mutaciones que 1) interfieren en la duplicación precisa del genoma y, en consecuencia, aumentan la tasa de mutaciones, 2) disminuyen la eficiencia de la reparación del ADN y aumentan los cortes y reordenamiento en los cromosomas, que produce un genoma anormal e inestable (Alberts *et al*, 2006).

Cualquier organismo pluricelular tiene la posibilidad de desarrollar cáncer en cualquier etapa de la vida, particularmente la probabilidad de algún tipo de cáncer se incrementa cuando se tienen edades avanzadas en el ciclo de vida de un ser vivo, como por ejemplo en el ser humano, debido a la posible acumulación en forma gradual durante un prolongado periodo de tiempo de una gran cantidad de mutaciones en su genoma a lo largo de su vida.

El cáncer es la consecuencia de alteraciones genéticas. Entre los agentes ambientales que provocan mutaciones, es decir, cambios en la secuencia de nucleótidos en el ADN, están la exposición a distintos mutágenos o agentes físicos, químicos o biológicos. Los cancerígenos químicos causan cambios locales en la secuencia de nucleótidos, las radiaciones ionizantes como los rayos X, causan rompimientos de cromosomas y

translocaciones y los virus introducen ADN ajeno en el interior de las células (Alberts *et al*, 2004).

Aún sin tomar en cuenta a los agentes mutagénicos externos, se producen también naturalmente mutaciones internas en cualquier organismo y tipo de célula en forma espontánea, como resultado de algunos errores que se producen durante los procesos de duplicación y reparación del ADN (Alberts *et al*, 2006).

Por lo tanto, los procesos de formación de cáncer, denominados oncogénesis, son una interacción entre la genética y agentes en el medio ambiente (Lodish *et al*, 2005).

Las células cancerosas suelen distinguirse y diferenciarse de las células normales en que tienen una serie de cambios específicos como por ejemplo una rápida y continua tasa de división celular, la invasión a nuevos territorios y una morfología anormal (Klug y Cummings, 1999; Griffiths *et al*, 2002).

Las células cancerosas tienen las siguientes propiedades principales en común:

- a) Una multiplicación y división celular continua. Esto se debe que las células cancerosas son deficientes y/o han perdido sus puntos de control y regulación del ciclo y división celular y/o han perdido también algún gen regulador o algún segmento importante de este.
- b) El Cáncer además de una acumulación gradual de mutaciones con el paso del tiempo, es resultado de ineficaces procesos en los mecanismos de reparación del ADN.
- c) Las células cancerosas tienen capacidad de extenderse, migrar, invadir y colonizar hacia otras células y tejidos del organismo a través del torrente sanguíneo en los seres humanos. A esta propiedad se le conoce como **metástasis** (Klug y Cummings, 1999).

Estas propiedades características de las células cancerosas dan como resultado una peligrosa combinación que puede llegar a ser mortal.

Las células cancerosas, han perdido la capacidad para regular su propio crecimiento y división celular. Por ello, pueden desarrollarse dando lugar a tumores malignos que

invaden a otros tejidos como por ejemplo a los tejidos vecinos. Normalmente la mayoría de estas células muere; sin embargo, aquellas que logran sobrevivir, colonizan e invaden a otras células y tejidos, para comenzar a dividirse y formar un nuevo tumor maligno.

Las alteraciones en la estructura de los cromosomas están asociadas con diversas formas de cáncer. En algunos casos el reordenamiento de los cromosomas está relacionado con cáncer (Klug y Cummings, 1999).

La probabilidad de la progresión de cáncer aumenta conforme se incrementa el número de células con capacidad de mutación. Así también las mutaciones que hacen que las células no respondan a los controles normales en la regulación de la división y ciclo celular son una característica muy común en el cáncer. En los tejidos adultos normales las células pueden proliferar continuamente y su número permanecer estable, debido a que la producción celular se equilibra con la muerte celular.

Una de las propiedades importantes de las células cancerosas es que han perdido su capacidad de muerte celular por apoptosis.

Los tejidos en general son renovados por células nuevas a partir de células madre (figura 28). En promedio, cada división normal de una célula madre genera una célula hija, la cual a su vez generará a otra célula que tendrá una diferenciación terminal, así como también la suspensión de su división celular y finalmente su muerte (figura 28). Si la célula madre se dividiera más rápidamente, se producirían más células totalmente diferenciadas que se descamarían más rápidamente, con lo que se seguiría manteniendo el equilibrio entre producción de nuevas células y su muerte. Por lo tanto, para que una célula madre transformada se mantenga en un crecimiento constante, es necesario que las pautas básicas estén alteradas o bien el proceso de diferenciación ha de estar descontrolado de manera que las células hijas retengan cierta capacidad de dividirse indefinidamente, evitando su muerte celular (figura 28) (Lodish *et al*, 2005).

La división celular está regulada de manera general de dos formas:

- a) por genes supresores de tumores
- b) por protooncogenes

Los primeros son los llamados **genes supresores de tumores**, los cuales normalmente actúan deteniendo, controlando o inhibiendo la división celular. Estos genes inactivan o reprimen el progreso del ciclo y la división celular. Estos genes y/o sus productos génicos deben estar ausentes o inactivos para que tenga lugar la división celular. La mutación, pérdida o inactivación de estos genes, puede tener como consecuencia, el que se puede perder el control sobre la división celular y la célula comienza a proliferar de una manera descontrolada pudiendo llegar a convertirse en una célula cancerosa (Alberts *et al*, 2006; Klug y Cummings, 1999).

Por su parte en el segundo caso los genes conocidos como **protooncogenes**, funcionan normalmente promoviendo la división celular. Estos genes también tienen como función promover el normal crecimiento, proliferación, división y diferenciación celular (Rivera, 2002). Los protooncogenes codifican para proteínas necesarias en sitios específicos a lo largo de la célula en la que regulan la progresión ordenada de el ciclo celular (Passarge, 2001). Estos genes pueden activarse o desactivarse y cuando están activos promueven la división celular. Para poder detener la división celular, estos genes y/o sus productos génicos, tienen que inactivarse. Si los **protooncogenes** quedan permanentemente activos, entonces se da una división celular continua, sin control alguno, dando lugar a la formación de algún tumor.

Cuando un protooncogen tiene una mutación, éste se transforma en un oncogen. Los oncogenes actúan de forma dominante; es decir es suficiente la mutación de un solo alelo en un cromosoma del par de homólogos para que el oncogen actúe (Paniagua *et al*, 2007). Por lo cual los oncogenes están íntimamente relacionados con el desarrollo de procesos cancerosos (Klug y Cummings, 1999).

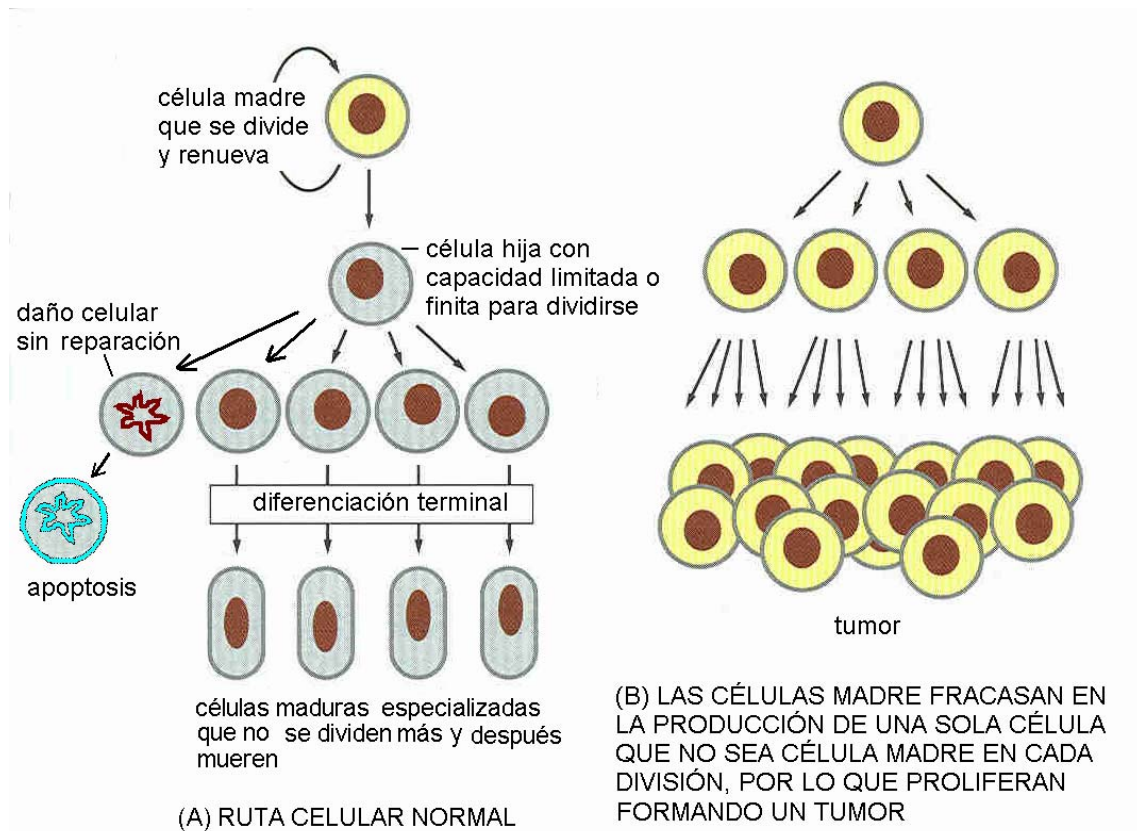


Figura 28 Ruta de célula normal y de célula tumoral maligna cancerosa (imagen modificada del Alberts *et al*, 2004)

Las mutaciones con ganancia de función convierten protooncogenes en oncogenes

Un oncogén es cualquier gen que codifica una proteína capaz de transformar células en cultivo e inducir cáncer. Los oncogenes pueden ser identificados por su capacidad de transformar una línea celular en células con proliferación cancerosa (Alberts *et al*, 2004).

De los numerosos oncogenes conocidos, la mayoría excepto algunos derivan de genes celulares normales (protooncogenes) cuyos productos promueven la proliferación celular (Lodish *et al*, 2005).

Los oncogenes (genes inductores de tumores) podrían transformar las células y generar un estado alterado del control de la proliferación celular, para producir un tumor (Passarge, 2001).

Un oncogen celular inactivo, puede activarse cuando se mueve mediante translocación cromosómica a la vecindad de un gen activo. En el linfoma de Burkitt, un gen inactivo se translada a una región de un gen activo de una inmunoglobulina. En otros casos, el punto de ruptura de la translocación cromosómica puede estar dentro de un oncogen celular y en consecuencia puede afectar su expresión. Un ejemplo es el cromosoma de la translocación de Filadelfia. La multiplicación (amplificación) de un gen, es otro mecanismo que puede conducir a la expresión alterada (por lo general aumentada) (Passarge, 2001).

A continuación se analizan algunos de los posibles mecanismos más frecuentes para la activación o conversión de un protooncogen a un oncogen son las siguientes: (Rivera, 2002).

- **Mutaciones puntuales** (es decir, cambio de bases) en un protooncogen que deriva de un producto proteico activo.
El ejemplo clásico de la activación de los oncogenes por mutaciones puntuales son la familia de genes conocidos como **ras** (Lisker, 2001).
- **Translocación cromosómica** que ubica un gen regulador del crecimiento bajo el control de un promotor diferente que causa la expresión inadecuada del gen. En múltiples ocasiones los rearrreglos cromosómicos en leucemias y linfomas son translocaciones que involucran genes de inmunoglobulinas o de receptores para células T y protooncogenes (Rivera, 2002; Lodish *et al*, 2005).
- **Rearreglos genéticos dentro de la secuencia codificadora**
El mejor ejemplo es la leucemia granulocítica crónica en la que más del 90% de los enfermos tienen cromosomas Filadelfia. La formación de este cromosoma implica

que el oncogen c-abl, normalmente ubicado en la banda q34 del cromosoma 9, pasa a la región q11 del cromosoma 22 (Lisker, 2001).

- **Rearreglos genéticos fuera de la secuencia codificadora**

El mejor ejemplo es el linfoma de Burkitt. La mayoría de esos tienen una translocación recíproca entre los cromosomas 8 y 14 (Lisker, 2001).

- **Amplificación génica** que conduce a la generación de numerosas copias, de oncogenes lo que conduce a la sobreproducción de la proteína codificada (Rivera, 2002; Lodish *et al*, 2005). El aumento en la velocidad de transcripción y en el número de copias de un gen, puede hacer que ese gen se exprese en forma excesiva. El aumento en el número de copias denominado amplificación genética parece ser frecuente en las células tumorales. Ejemplo de ello es el neuroblastoma (Lisker, 2001).

Mutaciones genéticas en el desarrollo del cáncer

En la aparición del cáncer se han implicado mutaciones en dos clases de genes: **los protooncogenes** y los **genes supresores de tumores** (Lodish *et al*, 2005).

La proliferación y la supervivencia de las células normales están controladas por **protooncogenes** promotores de la división celular y por **genes supresores de tumores** inhibidores de la división celular. Mutaciones o lesiones en estos genes, tanto adquiridas de modo somático como heredadas, o ambas, pueden producir cáncer, el cual se caracteriza por un crecimiento y proliferación anormales (Manson, 2003).

Las mutaciones en **genes supresores de tumores** generalmente son recesivos: no se produce una pérdida del control hasta que han sido inactivadas las dos copias del gen (Alberts *et al*, 2004).

Los **genes supresores de tumores** cuya actividad normal es fundamental para las células porque actúan para regular el ciclo celular. Estos genes codifican proteínas de

una u otra forma inhiben la proliferación celular. Las mutaciones con pérdida de función en uno o más de estos frenos contribuyen al desarrollo de cáncer.

Los **genes supresores de tumores** se definen como elementos genéticos cuya pérdida o inactivación permite la transformación celular. En condiciones normales estos genes participan en las vías celulares como reguladores, controlando el balance entre la proliferación, la diferenciación y la muerte celular (Rivera, 2002).

Lo típico es que estos genes solo expresan su falta de función en estado homocigótico, esto es cuando ambos genes están alterados, es decir, que actúan como recesivos. Su función normal, es la regulación del ciclo celular, evitando el desarrollo de un tumor maligno. Por consiguiente los genes de este tipo se han denominado supresores de tumores (Solari, 2004).

Los **genes supresores de tumores** se conocen también como **antioncogenes**, dado que normalmente inhiben la generación tumoral. Los tumores se desarrollan si existe pérdida de ambos alelos normales, de modo que los genes supresores de tumores son recesivos desde el punto de vista celular. La alteración en genes supresores de tumores tiene que producirse en ambos cromosomas homólogos.

Los **genes supresores de tumores** son recesivos desde el punto de vista celular. Por tanto, si un individuo hereda una mutación en un alelo, cada célula del organismo dependerá del producto del alelo normal para regular el crecimiento celular. Suele bastar una copia de un gen supresor de tumores para controlar la normal proliferación celular, ambos alelos de un gen supresor de tumores deben perderse o inactivarse para estimular el desarrollo tumoral. Dado el número de células del organismo, es estadísticamente probable que el alelo normal experimente una mutación somática en al menos una célula en algún momento. De este modo, las mutaciones heredadas en los genes supresores de tumores suelen heredarse de modo dominante. Este fenómeno en el que se pierde un único alelo funcional es decir, la pérdida de ambos alelos normales se denomina "**pérdida de la heterocigidad**" (figura 29) (Lodish *et al*, 2005; Manson, 2003).

A diferencia de los oncogenes celulares, para los que un cambio de un alelo alterará la función normal, ambos alelos de un gen supresor de tumor deben perder su función antes de que se desarrolle un tumor (Passarge, 2001).

Es posible heredar una propensión al cáncer si se recibe un alelo dañado de un gen supresor de tumores de uno de los padres; es decir, se es heterocigoto para la mutación. Esto por sí mismo no causa cáncer, puesto que el alelo normal restante evita el cáncer, el cual es recesivo. La pérdida o inactivación posterior del alelo normal en una célula somática, denominada **pérdida de heterocigocidad**, es un prerrequisito para la aparición del cáncer (figuras 29 y 30).

Hay mecanismos para la pérdida de heterocigocidad de los genes supresores de tumores como los siguientes: por lo general, una célula que contiene un alelo normal y uno mutante de un gen supresor de tumores es normal desde el punto de vista fenotípico. Si hay una no disyunción o no separación o hay una separación errónea de los cromosomas portadores de un gen mutante durante la mitosis o la pérdida de un cromosoma, el cual es debido a un error en el ciclo de división celular (figura 29) entonces los cromosomas duplicados portadores de los alelos normal y mutante se pueden separar en una relación 3:1. Una célula hija que recibe tres cromosomas de un tipo casi siempre perderá uno, restableciendo así el número de cromosomas $2n$. A veces, la célula resultante contendrá un alelo normal y uno mutante, pero otras será homocigótica para el alelo mutante (OO). Hay que notar que tal aneuploidía (constitución cromosómica anormal) suele ser dañina o letal para las células que tienen que desarrollarse de las numerosas y complejas estructuras de un organismo, pero a menudo puede ser tolerada en clones de células que tienen tareas y destinos limitados (figura 29) (Rivera, 2002; Lodish *et al*, 2005).

Otro mecanismo posible es la recombinación mitótica entre la cromátida portadora del alelo de tipo silvestre y una cromátida homóloga portadora de un alelo mutante (figura 29) seguida por segregación cromosómica que puede producir una célula que contiene dos copias del alelo mutante (OO) (figura 29) (Lodish *et al*, 2005). La segregación

cromosómica posterior puede generar una célula hija que es homocigótica para el alelo mutante. Así también este proceso puede suceder después de la segregación, dando lugar a una célula que conserva su heterocigocidad en los loci próximos al punto de recombinación (Rivera, 2002).

Un tercer mecanismo es la delección o mutación de la copia normal del gen supresor de tumores; dicha eliminación puede comprender una extensa región cromosómica y no necesita ser una delección precisa de solo un gen supresor de tumores (Lodish *et al*, 2005).

Así también mutaciones de tipo puntual, como el caso en el cual un cromosoma normal sufre una mutación puntual en el locus homólogo al del cromosoma mutado puede causar la **pérdida de la heterocigocidad** (Rivera, 2002).

Las mutaciones en los genes supresores de tumores, al igual que las mutaciones en los protooncogenes, actúan directa o indirectamente, activando o inactivando los puntos de control del ciclo celular y/o inhibiendo la apoptosis (Griffiths *et al*, 2002).

Las diferencias entre los cánceres ocasionados por oncogenes y genes supresores estriban en que estos últimos pueden ser hereditarios (Rivera, 2002).

Entre los genes supresores de tumores están el que codifica la proteína del retinoblastoma RB y el que codifica la proteína p53 (Solari, 2004).

La **proteína p53** (llamada así por su peso molecular de 53 KDa.) Es una fosfoproteína, indispensable en el control del ciclo celular. Se une a secuencias específicas del ADN y regula la expresión de diferentes genes reguladores involucrados en el crecimiento (Passarge, 2001).

La proteína p53 juega un doble papel, regulando tanto la progresión a través del ciclo celular estimulando o promoviendo la apoptosis, cuando el daño de la célula no puede repararse, así como también enzimas que participan en la reparación del ADN. La

inactivación de p53, es peligrosa al permitir a las células senescentes y con lesiones genéticas continuar duplicando su ADN, incrementando las lesiones y eludir la apoptosis. p53 codifica proteínas de control de puntos clave que detienen el ciclo celular si el ADN está dañado o los cromosomas son anómalos. La pérdida de la función de p53 puede contribuir a la inestabilidad genética de muchos tumores metastásicos (Alberts *et al*, 2004; Lodish *et al*, 2005).

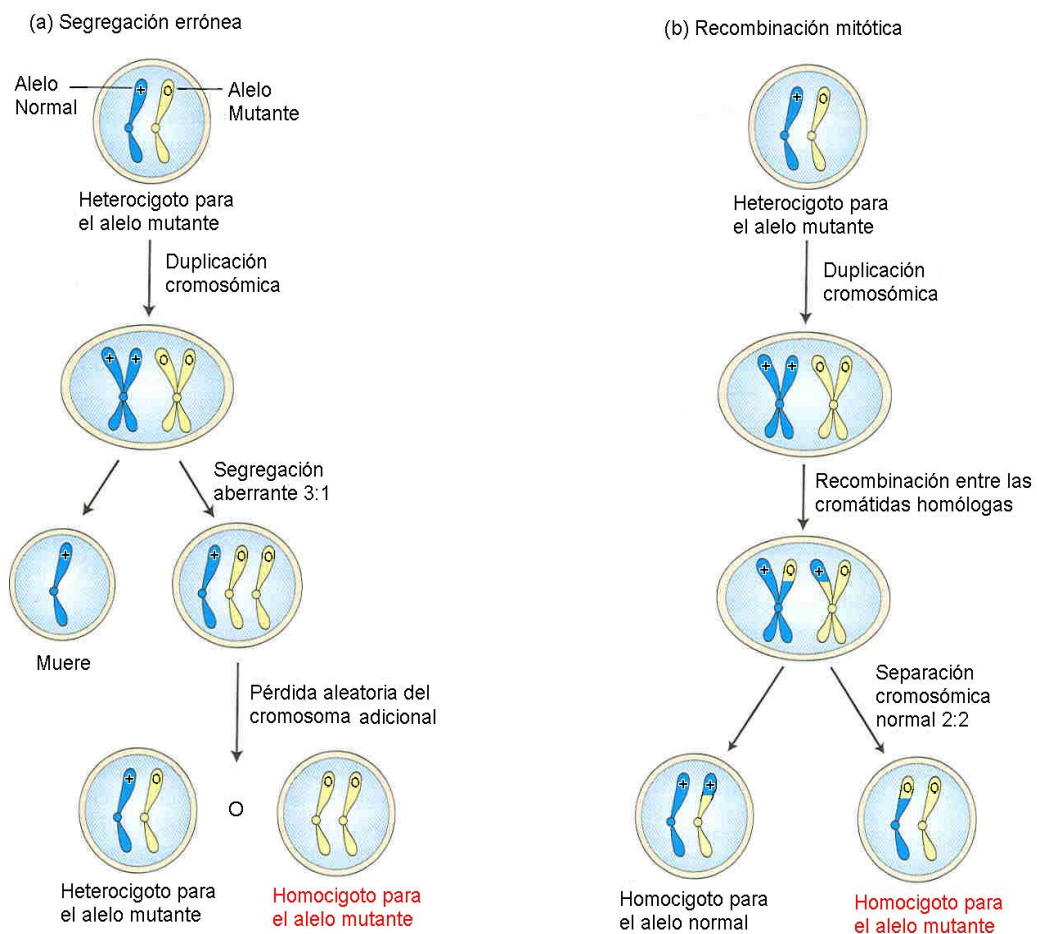


Figura 29 Dos mecanismos para la pérdida de heterocigocidad de los genes supresores de tumores (imagen de Lodish *et al*, 2005).

Retinoblastoma

El retinoblastoma es el tumor intraocular maligno que afecta a niños menores de cinco años y que es curable con radioterapia si se diagnostica a tiempo. El cual se presenta con una frecuencia de 1 en cada 20,000 nacimientos. El retinoblastoma representa entre el 1% al 3% de los cánceres pediátricos (Salamanca, 1993; Cameron, 1995). Este cáncer es ocasionado por mutaciones en el gen RB^+ (Cameron, 1995; Solari, 2004).

Este tumor es consecuencia de la pérdida de función de ambos alelos del gen de retinoblastoma RB^+ (Passarge, 2001).

El retinoblastoma se puede presentar en uno o ambos ojos. El tumor progresa con rapidez. Las proporciones relativas de los tipos genéticos del retinoblastoma son alrededor del 60% de mutaciones somáticas (forma no hereditaria) y el 40% de mutaciones en la línea germinal, transmitidas como un rasgo autosómico dominante (forma hereditaria, en cerca del 10 al 15%, por transmisión de uno de los padres; el resto por una nueva mutación) (Passarge, 2001).

Así también el tipo de mutaciones en el retinoblastoma hereditario involucra deleciones (26%) inserciones (9%) y mutaciones puntuales (65%) (Passarge, 2001).

En la forma hereditaria del retinoblastoma tiene la característica de ser dominante. Esta mutación se debe a la pérdida del gen RB^+ en el cromosoma 13q14, el cual codifica a la proteína RB^+ . Las células del tumor han perdido la función del alelo normal. El producto del gen RB^+ , su proteína RB^+ , desempeña un papel regulador en el ciclo celular y, por consiguiente, merece ser ubicada entre las proteínas de este ciclo y no como una proteína anormal. Los casos restantes suceden de manera esporádica (Solari, 2004).

El tumor se origina en las células progenitoras de los receptores de la retina durante su maduración final posnatal. Cuando un paciente ha sido tratado de manera exitosa con radioterapia y se ha logrado la curación definitiva del retinoblastoma, se debe tener en

cuenta la significativa propensión de los casos hereditarios al desarrollo de otros tipos de tumores a causa de la deficiencia del gen del retinoblastoma (RB^+), que actúa en forma general como supresor tumoral (Solari, 2004).

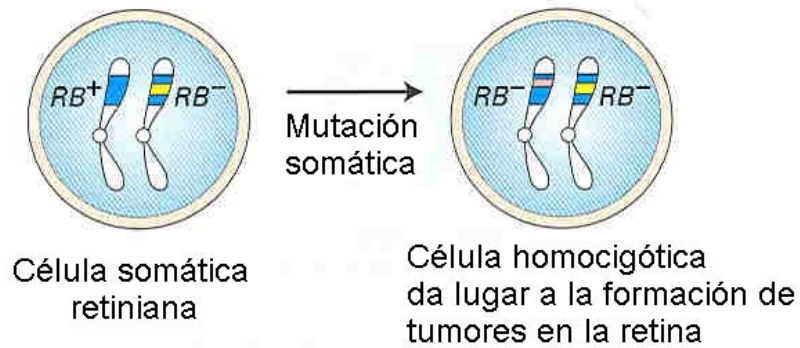
Una vez que se presenta la primera mutación la célula es heterocigota, con un alelo RB^+ normal y otro mutado (RB^+/RB^-). Cuando sucede la segunda mutación, la célula se hace homocigota (RB^-/RB^-); ésta pérdida de heterocigocidad fisiológicamente se traduce en pérdida de la función del gen, proceso necesario para el desarrollo del tumor (Cameron, 1995) (figura 30).

Esta enfermedad se caracteriza por tumor en la retina que surgen de células que portan dos alelos mutantes RB^- . (a) En el retinoblastoma hereditario, un niño hereda un alelo normal RB^+ de un progenitor y un alelo RB^- mutante del otro progenitor. Una sola mutación en una célula somática heterocigótica de la retina que inactiva el alelo normal producirá una célula homocigótica para dos alelos mutantes RB^-/RB^- . (b) En el retinoblastoma esporádico, los niños heredan dos alelos normales RB^+ . Son necesarios dos mutaciones somáticas separadas en una célula retiniana en particular o su progenie para producir una célula homocigótica RB^-/RB^- (figura 30) (Lodish *et al*, 2005).

Debido a que la pérdida de dos copias del gen RB^+ (figura 30) es mucho menos probable que la pérdida de una, el retinoblastoma esporádico es infrecuente, se desarrolla a edad avanzada y por lo general sólo afecta a un ojo.

Varios tumores humanos (no solo de la retina) contienen alelos mutantes, varios de éstos se originan como resultado de mutaciones somáticas (Lodish *et al*, 2005).

(a) Retinoblastoma hereditario



(b) Retinoblastoma esporádico

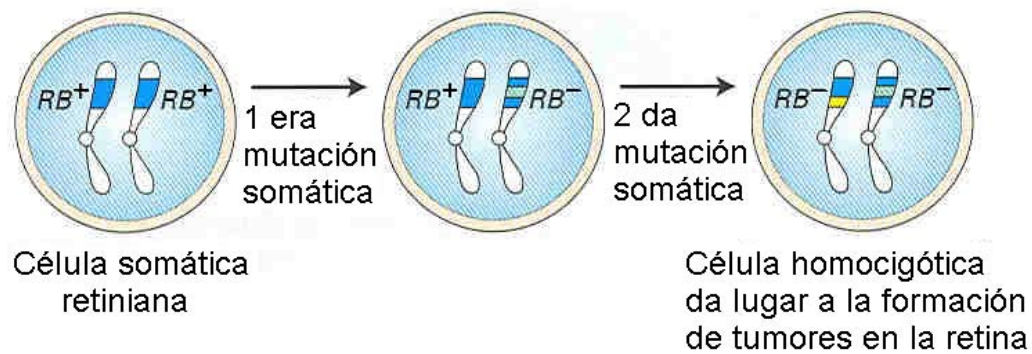


Figura 30 Función de la mutación somática en el retinoblastoma. Pérdida de la heterocigocidad del gen del retinoblastoma RB^+ por RB^-/RB^- (homocigosidad) (imagen de Lodish *et al*, 2005).

Algunas características importantes de las células cancerosas (Alberts *et al*, 2004; Alberts *et al*, 2006).

Algunas de las características más relevantes que tienen las células cancerosas en contraposición a las células normales, son las siguientes:

- 1.- Las células cancerosas dependen menos de señales provenientes de otras células para crecer, sobrevivir y dividirse. Con frecuencia esto se debe a que contienen mutaciones en componentes de las vías de señalización y comunicación celular. Las células cancerosas ignoran las señales internas y externas que regulan la proliferación celular.
- 2.- Las células cancerosas tienen menos probabilidades de autodestruirse por apoptosis.
Esto se debe a mutaciones en genes que regulan el programa de muerte celular.
- 3.- A diferencia de la mayoría de las células normales humanas, las células cancerosas en general pueden proliferar de manera ilimitada. Casi todas las células somáticas humanas normales solo se dividen en una cantidad limitada de veces en cultivo y luego dejan de dividirse, esto no sucede así en las células cancerosas, las cuales pueden continuar dividiéndose ilimitada y descontroladamente (figura 28). Es decir, las células cancerosas tienen alterado o no funcionan eficientemente sus mecanismos de control y regulación del ciclo celular.
- 4.- La mayoría de las células cancerosas son genéticamente inestables, con una tasa de mutación mucho más elevada que las células normales.
- 5.- Las células cancerosas tienen la propiedad de desplazarse e invadir tejidos (metástasis). Este tipo de células pueden sobrevivir y proliferar en cualquier tejido como resultado de la metástasis.

La progresión de los tumores implica rondas sucesivas de mutación y selección natural

En general los cánceres aparecen por un proceso en el cual una población inicial de células ligeramente anormales, descendientes de una sola célula mutante, evoluciona a través de ciclos sucesivos de mutaciones y selección natural. En cada etapa, una de las células adquiere una mutación adicional que le proporciona una ventaja selectiva sobre sus vecinas, capacitándola para sobrevivir mejor en el entorno que, en el interior del tumor (Alberts *et al*, 2004).

¿Porqué son necesarias varias mutaciones? En primer lugar porque los procesos celulares están controlados de forma compleja e interconectada. Por lo tanto, se han de alterar distintos mecanismos para que una célula pueda salir de sus restricciones normales y comportarse como una célula cancerosa tumoral.

Entre las alteraciones a las células cancerosas están las siguientes: alteraciones en las vías de señalización celular, para ignorar las señales que proceden de su entorno y que normalmente mantienen la proliferación celular bajo un estricto control. Además, también como parte de su proceso de evolución, las células cancerosas ignoran las señales de muerte celular programada (apoptosis) y eluden las limitaciones programadas de proliferación incluyendo la senescencia y las rutas normales de diferenciación, que de lo contrario impedirán su capacidad de crecer y de proliferar (Alberts *et al*, 2004).

Puesto que son necesarias varias mutaciones para proporcionar este gran conjunto de propiedades dañinas, quizás no sorprenda que casi todas las células cancerosas dispone de propiedades adicionales que las transforman en muy mutables, ya que han tenido que adquirir uno o varios defectos en distintos aspectos del metabolismo de su ADN (Alberts *et al*, 2004).

Alteraciones cromosómicas y cáncer.

Los síndromes de inestabilidad cromosómica no sólo se caracterizan por la susceptibilidad al cáncer, sino también porque los afectados muestran un crecimiento en las alteraciones cromosómicas (Salamanca, 1993).

Factores genéticos en el proceso de transformación maligna constituyen la presencia de aberraciones o alteraciones cromosómicas en las células cancerosas. Casi desde inicios del desarrollo de la citogenética se conoce que los pacientes con anomalías cromosómicas constitucionales presentan una elevada frecuencia al cáncer. Los niños con Síndrome de Down (trisomía 21), tiene una frecuencia de 10 a 15 veces mayor a desarrollar algún tipo de cáncer que la que se presenta en las personas normales de la misma edad (Salamanca, 1993).

Las células cancerosas presentan alteraciones tanto en el número como también en la estructura de sus cromosomas y algunos canceres se acompañan de alteraciones o aberraciones cromosómicas específicas del tipo de la translocación o de la delección. (Salamanca, 1993).

Entre 54% y 75% de los pacientes con leucemia mieloblástica aguda o algún otro tipo de leucemia tienen alteraciones cromosómicas tanto numéricas como estructurales (translocaciones) (Lisker, 2001).

Es característico encontrar en las células tumorales: aumento (hiperdiploidía) o disminución (hipodiploidía) en el número de los cromosomas; en células pseudodiploides, las cuales son aquellas que contienen un número cromosómico aparentemente normal pero contienen aberraciones o alteraciones estructurales. También suele observarse el fenómeno de la endorreduplicación, es decir, cuando los cromosomas se duplican pero no se separan (Salamanca, 1993).

El aporte más significativo de la citogenética lo constituye el haber demostrado alteraciones cromosómicas específicas en las células cancerosas. Estas alteraciones

no solo se han descrito en las leucemias y los linfomas, sino también en los tumores y resultan de utilidad para establecer el diagnóstico y para pronosticar el desarrollo del cáncer (Salamanca, 1993).

Leucemias y Linfomas

Las enfermedades hematológicas cancerosas son las más estudiadas citogenéticamente.

La primera alteración descrita fue el denominado cromosoma Filadelfia, por Nowell y Hungerford en 1960. El **cromosoma Filadelfia** puede encontrarse en algunas leucemias agudas (leucemia linfocítica aguda y/o leucemia granulocítica crónica). Este cromosoma ha sido hallado en cerca del 85 % al 95% de los casos con leucemia mieloide crónica (Passarge, 2001; Lisker, 2001).

Esta enfermedad en el cromosoma Filadelfia es una translocación recíproca entre los cromosoma 22 y 9 (Passarge, 2001).

Cerca del 50% de los pacientes con leucemia aguda no linfocítica presentan alteraciones cromosómicas identificables. En esta enfermedad son frecuentes estas aberraciones, tanto numéricas como estructurales (Salamanca, 1993).

Otro ejemplo es el linfoma de Burkitt en el que hay intercambio de material genético entre los cromosomas 8 y 14. La anormalidad cromosómica se reencuentra en todos los pacientes con ese tumor (Lisker, 2001).

Inestabilidad cromosómica

La otra línea de evidencia que une los factores genéticos y las aberraciones cromosómicas con el cáncer lo constituyen lo que se conoce como inestabilidad cromosómica. Son personas afectadas que muestran alteraciones cromosómicas estructurales que presentan en la niñez o en la adolescencia diferentes tipos de cáncer (Salamanca, 1993).

7 DISCUSIÓN GENERAL

El material genético es susceptible de tener modificaciones que pueden llegar a ser permanentes, conocidas como **mutaciones** en el ADN de los seres vivos, las cuales generalmente suceden al azar y pueden ser espontáneas o inducidas. Las mutaciones pueden llegar a ser en algunos casos perjudiciales e incluso mortales para la sobrevivencia de un organismo, por lo cual los seres vivos cuentan con distintos mecanismos de reparación del ADN que eliminan errores y mutaciones en el material genético cuidando de mantenerlo en fidedignas y óptimas condiciones durante el ciclo celular y el ciclo de vida en todos los organismos.

La recombinación es uno de los mecanismos importantes que tienen las células para la reparación del daño al ADN que tiene como base al entrecruzamiento. Este último, es un proceso que involucra el intercambio físico por medio de la ruptura y unión de moléculas de ADN tanto en los genomas procariontes y eucariontes.

Es importante el estudio tanto de los procesos de reparación y de recombinación, ya que son importantes eventos genéticos en la biología celular de los seres vivos, que de manera permanente se llevan a cabo en el material genético de todos los organismos, como parte de su ciclo de vida, de su supervivencia, conservación, variabilidad, etc.

La recombinación sucede en la mitosis y la meiosis. En la mitosis en células somáticas, en tanto que en la meiosis, en células germinales. La recombinación se ha estudiado como un evento importante en la biología de los seres vivos que genera nuevas combinaciones de secuencias genéticas que dan variabilidad a los organismos, al ser la recombinación un mecanismo por el que la información genética se redistribuye suministrando una fuente de variación y selección en la evolución de los seres vivos. Otra función relevante en la que está implicada la recombinación es la de ser un mecanismo de reparación del daño al ADN y, en consecuencia, es un mecanismo de conservación de la integridad del material genético.

El mecanismo de recombinación no está limitado a los eucariontes ni tampoco a los organismos de reproducción sexual, la recombinación también sucede en los procariontes que se reproducen asexualmente, como por ejemplo las bacterias. Es decir, la recombinación se puede llevar a cabo en todo tipo de células y de organismos. Algunas de las condiciones y elementos esenciales para que se pueda llevar a cabo el proceso de recombinación son los siguientes: primero que haya un intercambio entre segmentos de ADN cercanos entre sí. Segundo, que las moléculas de ADN tengan la misma polaridad, y tercero, que la célula tenga la maquinaria enzimática necesaria de nucleasas que identifican y/o rompen el ADN dañado, DNA polimerasas que polimerizan el o los segmentos de ADN alterados o rotos y DNA ligasas que reparan y unen a esos segmentos de ADN reparado.

El entrecruzamiento se lleva a cabo después de que los cromosomas se han duplicado, en la etapa conocida como de 4 cadenas. Se ha utilizado al hongo *Neurospora crassa* como principal organismo experimental debido a la ventaja de poder fácilmente analizar sus ascas y sus esporas ordenadas de manera natural. El orden en el cual las esporas están arregladas linealmente provee la evidencia que postulan los eventos de entrecruzamiento cromosómicos y reflejan el origen de las esporas durante la meiosis.

La meiosis del cigoto sucede dentro del asca, que es una estructura alargada, situada en el interior del cuerpo fructífero, que encierra los productos meióticos en el mismo orden en que se formaron. El orden en el cual las esporas están arregladas linealmente provee la evidencia que postula los eventos de entrecruzamiento cromosómico (Tamarin, 1982; Avers, 1984).

Los estudios realizados con *Neurospora crassa* demostraron que al realizarse un entrecruzamiento de este hongo AB (paterno) * ab (materno) y relacionando el tipo de asca con la etapa del ciclo celular, se encontró que solo después de duplicado el ADN se halló el tipo de arreglo tetratipo (T) (AB, Ab, aB, ab). En el cual, de las cuatro ascas, dos son ditipo parental (DP) (AB, ab) y las otras dos son ditipo no parental (DNP) (Ab, aB) es decir, éstas últimas son recombinantes. Con lo cual se demostró que la

recombinación se lleva a cabo después de la síntesis (S) del ciclo celular (Klug y Cummings, 1999; Griffiths *et al*, 2002)

Neurospora es un organismo el cual muestra que en cada punto y evento de entrecruzamiento, participan 2 de las 4 cadenas de ADN, cromátidas de los cromosomas homólogos en la meiosis. Así, también se producen 50% de gametos que son parentales y 50% son recombinantes o no parentales (Avers, 1984; Tamarin, 1982). Morgan y Sturtevant, propusieron el intercambio físico entre cromosomas aunque no especificaron ni el momento ni lugar del intercambio. Para ello, los cromosomas deben estar cercanamente apareados (Avers, 1984).

Morgan propuso en 1911 nuevas combinaciones de genes ligados por intercambios entre cromosomas durante la meiosis. Posteriormente, Morgan y Sturtevant dijeron que en algún momento del ciclo celular debería de haber alguna evidencia física o citológica del entrecruzamiento. Lo cual varios años después, cuando se descubrieron los quiasmas y las formas en cruz de los cromosomas en la profase de la primera división de la meiosis, se relacionó y supuso que ésta era la evidencia del intercambio entre segmentos de ADN que se buscaba y se relacionó con lo planteado por Morgan y Sturtevant, aunque ellos no mencionaron el momento del ciclo celular en que sucedía esto.

La propuesta de Morgan de que los intercambios de cromosomas conducen a la recombinación tuvo la evidencia experimental en 1931 cuando se publicaron dos artículos independientemente, que mostraron evidencias de intercambio físico entre cromosomas homólogos. Debido a que estas estructuras se aprecian durante la profase meiótica, se consideró que este era el momento del ciclo celular en el que se llevaba a cabo el intercambio. Estos estudios, fueron los trabajos de Curt Stern, utilizando a *Drosophila melanogaster* en tanto que Nerriet Creighton y Bárbara Mc Clintock utilizaron la genética de la planta del maíz (Avers, 1984).

Morgan y Sturtevant realizaron estudios del patrón hereditario de genes ligados.

Sturtevant propuso que, con una cierta aproximación, se cumplía la siguiente relación: “cuanto mayor es la distancia entre genes ligados, mayor es la probabilidad de que tenga lugar un entrecruzamiento en la región comprendida entre los genes y, por tanto, mayor será la proporción de recombinantes que se obtengan” (Tamarin, 1982; Avers, 1991; Tamarin, 1996).

Tanto los estudios de Stern como los de Mc Clintock demostraron que los individuos genéticamente recombinantes poseían cromosomas homólogos físicamente intercambiados.

Para determinar si los intercambios físicos suceden en realidad, los cromosomas homólogos fueron alterados físicamente de tal manera que cada homólogo fuera fácilmente reconocible y relacionado con los alelos que llevaba.

En la década de 1930 el análisis citológico de Curt Stern en *Drosophila melanogaster*, y de Harriet Creighton y Bárbara Mc Clintock en *Zea mays*, demostraron de manera independiente, mediante pruebas visuales, que el entrecruzamiento es un intercambio físico entre segmentos de ADN de los cromosomas (Klug y Cummings, 1999).

La recombinación debería implicar un intercambio de partes físicas de los cromosomas homólogos. Esto se puede demostrar si podemos distinguir los dos cromosomas homólogos entre sí, un método utilizado por primera vez por Creighton en el maíz (Klug y Cummings, 1999).

Creighton y Mc Clintock concluyeron lo siguiente: “Se demostró que cromosomas apareados heteromórficos en dos regiones intercambian segmentos a la vez que intercambian genes asignados a estas regiones” (Tamarin, 1996).

La hipótesis del rompimiento y reunión para explicar el entrecruzamiento postulado por John Belling en 1931; aunque en un principio fue una posibilidad, posteriormente se consideró que había sido corroborada directa y experimentalmente por Stern y Mc Clintock, así como ampliamente aceptada. En 1961 Matthew Meselson y Jean Weigle

aportaron evidencias de rompimientos y subsecuentes nuevas uniones de moléculas de ADN como el mecanismo responsable para intercambios por entrecruzamiento de segmentos de cromosomas homólogos (Avers, 1984).

Los estudios de Mc Clintock tienen relación con el posterior modelo de recombinación propuesto por Holliday en 1964 en el sentido de que el entrecruzamiento que da lugar a la recombinación, es en efecto un intercambio físico de segmentos diferentes de ADN, que dan como resultado una nueva molécula recombinante diferente genéticamente de la parental que le dio origen.

Un importante modelo que explica la recombinación fue el presentado en 1964 por Robin Holliday el cual ha tenido base experimental y cumple con las condiciones y elementos necesarios para que se pueda llevar a cabo la recombinación, requisitos antes mencionados.

Este modelo ha tenido modificaciones desde que se presentó, las cuales han sido introducidos en el propio modelo de Holliday. A pesar de lo anterior, los postulados básicos de este modelo se han conservado y continúan vigentes, siendo éste, actualmente uno de los modelos mejor aceptados y más conocidos (Avers, 1984).

Gracias a la asociación del ADN a una serie de proteínas histonas y no histonas, éste ácido nucleico se condensa lo cual da lugar a estructuras de cromatina cada vez más compactas. Los cambios en la estructura y condensación del ADN en el nucleosoma y asas de cromatina permiten el acceso al ADN, de acuerdo con la etapa del ciclo celular en que se encuentre la célula. Pasando desde los primeros y sencillos niveles de condensación del ADN en el nucleosoma con fibras de ADN de 30 nm de diámetro hacia cada vez mayores niveles de compactación de 300, 700 y hasta un máximo nivel de condensación del ADN de 1400 nm de diámetro en la metafase de la mitosis (Avers, 1991).

En la profase I de la primera división de la meiosis se descubrieron y han visto a los quiasmas y la formación del Complejo Sinaptonémico, participantes en la recombinación. Por ello se ha atribuido que el proceso de entrecruzamiento y de

recombinación se llevan en esa etapa. Sin embargo, cómo es posible que se pueda llevar a cabo el proceso de recombinación, precisamente cuando el material genético está condensado y, por tanto, está estrechamente asociado con varias proteínas histonas y no histonas en esa etapa del ciclo celular. Conociéndose que para que se pueda realizar el proceso de recombinación, el ADN debe estar relajado para que sus cadenas se puedan separar, y quedar libres de las histonas y otras proteínas que lo condensan, para que el ADN este en un ambiente favorable en el que se pueda llevar a cabo el entrecruzamiento y por lo tanto la recombinación.

Una posibilidad que se propone en este trabajo, es el tiempo que se llevan a cabo los eventos de entrecruzamiento y por lo tanto de recombinación, durante la interfase del ciclo celular, después de duplicado el ADN, y antes de que se inicie la siguiente división celular, probablemente en G_2 , debido a que en este momento el ADN se encuentra duplicado y relajado, presentando así las condiciones óptimas para que se puedan llevar a cabo los eventos de entrecruzamiento y por lo tanto de recombinación. También se conoce que algunos procesos de reparación se llevan a cabo después de la fase de síntesis del ciclo celular, en G_2 , además de que en otras fases también se llevan cabo otros mecanismos de reparación.

Por su parte, en los procariontes y virus, se lleva a cabo exitosamente la recombinación sin haber algún Complejo Sinaptonémico (CS) ni estructura equivalente. Por lo que queda la interrogante de ¿cuál es la verdadera función y/o ventaja del Complejo Sinaptonémico en el núcleo de las células eucariontes durante la meiosis? Algunas posibles respuestas son las siguientes: se tiene conocimiento que el CS es una estructura exclusiva en la meiosis, que tiene un importante papel durante este evento, en los eucariontes, se conoce que su función es la de acercar y asociar a los cromosomas homólogos duplicados, por lo que se ha pensado es una estructura que facilita la recombinación. El Complejo participa en la separación de los cromosomas homólogos y contribuye a la reducción del nivel de ploidía. Así también, los quiasmas probablemente sean restos de los puntos de unión o acercamiento entre los cromosomas homólogos en el CS, el cual se va degradando poco a poco. Sin embargo, no necesariamente cuando se observa ésto, en la profase de la primera división de la

meiosis es cuando se realiza el entrecruzamiento y por lo tanto la recombinación. Estos eventos podrían haberse realizado anteriormente en la interfase del ciclo celular después de la fase de síntesis, probablemente en G₂.

Aunque no se conocen las causas precisas por las cuales exactamente se produce la aproximación de dos moléculas de ADN homólogas, es decir, la causa por la que se produce el apareamiento y entrecruzamiento (Barzel A. y Kupiec M., 2008), en los eucariontes, se sabe que los cromosomas homólogos se mantienen apareados, gracias al Complejo Sinaptonémico (CS); sin embargo, esta estructura quizás no sea la causa del apareamiento ni de la recombinación (Avers, 1991; Kleckner N., 2006). A diferencia de los eucariontes, los procariontes no cuentan con CS, o al menos no se conoce hasta ahora y, sin embargo, estos organismos sí tienen recombinaciones exitosas.

Una de las tantas interrogantes de la biología que siguen siendo una incógnita hasta la fecha es: ¿cómo se encuentran entre sí los cromosomas homólogos entre una enorme cantidad de información genética en el genoma de un organismo? Para intentar dar algunas posibles respuestas se han ideado algunos modelos que han intentado explicar esto, al postular dos modelos: por una parte, un modelo llamado Modelo Nulo, en el cual Barzel y Kupiec mencionan que la recombinación de los homólogos es completamente azarosa aunque los propios autores reconocen al Modelo Nulo como poco probable, debido al enorme número de posibles candidatos que se tendrían que probar para identificar ¿cuál es la molécula homóloga?, además de realizar el entrecruzamiento y, por consiguiente, la recombinación homóloga, todo ello en el reducido y muy breve tiempo celular en que se realiza este mecanismo. En tanto que el otro modelo que no es el Nulo y que no tiene un nombre, menciona que los cromosomas homólogos tienen una especie de prearreglo genético interno, en el núcleo celular, en el que el mecanismo no es totalmente azaroso y que ese arreglo de alguna manera permite que los homólogos tengan un arreglo previamente establecido, el cual les permite estar juntos o muy cercanamente entre sí, facilitando así el entrecruzamiento y como resultado la recombinación entre moléculas homólogas (Barzel A. y Kupiec M., 2008). Efectivamente esto explicaría e implicaría que en el

núcleo celular en interfase, los cromosomas con dos cromátidas se encuentren juntos o cercanamente entre si.

Este arreglo permitiría a los cromosomas tener una determinada posición en el núcleo interfásico, lo cual le permitirá finalmente tener una recombinación exitosa. De cualquier manera, aunque las aportaciones de estos autores no responden completamente a la incógnita del encuentro entre homólogos antes planteada, dan luz para tratar de comprender al fenómeno de recombinación homóloga y sentar así algunas bases para mayor número de presentes y futuras investigaciones en esta materia (Barzel A. y Kupiec M., 2008).

Hay importantes semejanzas y diferencias entre los mecanismos de recombinación meiótica y mitótica, entre las que están las siguientes: ambos son procesos de recombinación en las cuales hay rompimiento y nueva unión entre diferentes segmentos de ADN. En ambos tipos de recombinación se presentan mecanismos de entrecruzamiento. La recombinación homóloga meiótica solo se presenta en los eucariontes con reproducción sexual. En tanto que la recombinación mitótica se presenta tanto en células somáticas y germinales.

En organismos eucariontes se presentan tanto la recombinación homóloga meiótica como también la recombinación mitótica.

Los cromosomas homólogos participan tanto en la recombinación meiótica y mitótica.

Así también hay participación del Complejo Sinaptonémico en la recombinación meiótica y no en la mitótica o no se conoce éste aquí ni tampoco alguna otra estructura similar.

La recombinación es un proceso y herramienta primordial entre los mecanismos de reparación de daños al ADN, es decir, de conservación en la integridad del material genético, que tiene una gran importancia en la sobrevivencia, tanto a nivel celular como del organismo. El estudio de organismos que o no llevan a cabo o son deficientes en los

procesos de reparación de la información genética a través de mecanismos de recombinación han aportado elementos que asocian a este evento con el desarrollo del cáncer.

Cuando un conjunto de genes tienen un cierto orden y estos están regulados y relacionados entre sí, y en algún momento se pierde alguno de estos genes, se altera o modifica el orden en la secuencia de ciertos genes o segmentos del ADN, como por ejemplo la pérdida de un gen regulador, todo ello como resultado de procesos de reparación y de recombinación. Este hecho, puede hacer que en algunas ocasiones probablemente esos genes o regiones en el ADN relacionados y regulados entre sí, puedan ser susceptibles de perder sus mecanismos de control y regulación del ciclo celular.

Ejemplo de lo antes mencionado es el resultado de translocaciones cromosómicas recíprocas entre cromosomas no homólogos en un evento de recombinación no homóloga, que pueden poner un gen regulador de crecimiento bajo el control de un diferente promotor que cause una inadecuada expresión de un gen determinado, alterando su expresión y por lo tanto la regulación de ese gen o grupos de genes. Esto llega a suceder en múltiples ocasiones en los rearrreglos genéticos y cromosómicos en el caso de leucemias y linfomas que son causadas como resultado de translocaciones.

Los genes supresores de tumores normalmente tienen como misión el detener e inhibir la división celular. Si estos genes llegan a tener alguna mutación, se puede perder el control de la división celular y la célula sigue dividiéndose de manera continua. A su vez esto tiene relación con los protooncogenes que promueven la normal división celular. Si estos genes llegan a tener alguna mutación convirtiéndolos de protooncogenes a oncogenes y/o se sobreexpresan, la alteración de ambos tipos de genes pueden dar lugar al desarrollo de procesos cancerosos. Las mutaciones en los genes supresores de tumores, y en los protooncogenes, actúan directa o indirectamente, activando, inactivando, modificando y alterando los puntos de control y regulación del ciclo celular y/o inhibiendo la apoptosis.

En el caso de mutaciones en los oncogenes, basta el cambio de un solo alelo, para que se altere la función normal del protooncogen. En cambio los dos alelos de ambos cromosomas homólogos de un gen supresor de tumores deben perder su función para que posteriormente se desarrolle un proceso canceroso.

También se puede tener propensión a desarrollar un cáncer por vía hereditaria en el caso de recibir un alelo dañado de un gen supresor de tumores de alguno de los padres, es decir, si se es heterocigoto para la mutación. Únicamente esto por sí mismo no causa cáncer, puesto que el alelo normal evita el cáncer. Sin embargo, la pérdida o inactivación posterior del alelo normal restante deja de evitar el desarrollo de cáncer. Esta pérdida o inactivación posterior del alelo normal en una célula somática se le conoce como pérdida de la heterocigocidad el cual es una especie de requisito previo en este caso para la aparición de cáncer. Un posible mecanismo para que esto suceda es la no disyunción o la incorrecta separación de los cromosomas que contienen algún gen supresor de tumores todo lo cual se debe a un error en el ciclo y división celular. Un ejemplo de lo antes mencionado es el caso del retinoblastoma, el cual se genera por pérdida de la heterocigocidad en el gen supresor de tumores del retinoblastoma RB^+ en las células somáticas de la retina, provocando como consecuencia el desarrollo de tumores en la retina del ojo, en niños menores de 5 años de edad.

Finalmente, es importante el continuar estudiando para tener una mejor y mayor comprensión sobre los mecanismos de recombinación, tanto como proceso de variabilidad, y selección en la información genética en la evolución de los seres vivos, pero sobretodo, como proceso de reparación de daño al ADN y por ende, como evento de conservación de la integridad del material genético. Todo ello como parte de los importantes procesos genéticos que se llevan a cabo normalmente en la biología celular en todos los seres vivos.

8 CONCLUSIONES

- La recombinación por medio del entrecruzamiento es el mecanismo de corte, rompimiento y unión entre segmentos de moléculas de ADN.
- La recombinación se puede llevar a cabo en todo tipo de células y organismos.
- La recombinación es uno de los mecanismos de reparación de daños al ADN, que permite la conservación e integridad del material genético.
- La recombinación es un mecanismo que por medio del entrecruzamiento puede proporcionar nuevos arreglos genéticos.
- Algunas de las siguientes son condiciones favorables para que se lleve a cabo la recombinación:
 - a) Cercanía entre sí de las cadenas de ADN
 - b) Cadenas de ADN que tengan la misma polaridad
 - c) Que se cuente con las enzimas necesarias (nucleasas, DNA polimerasas y DNA ligasas) para que se lleve a cabo la recombinación.
- Resultado de la recombinación como uno de los mecanismos de reparación del ADN ante mutaciones. La recombinación puede provocar rearrreglos genéticos o cromosómicos que pueden ser en algunos casos no favorables para un organismo en un momento dado, al alterar la regulación y expresión de ciertos genes, (protoncogenes y genes supresores de tumores) incrementando así las condiciones favorables para la aparición y desarrollo de procesos cancerosos.

9 BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Alberts B., Bray D., Hopkin K., Johonson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. y Walter P. 2006 Introducción a la Biología Celular Ed. Médica-Panamericana 2 Edición España 740 pp.

Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. y Walter P. 2004 Biología Molecular de la Célula Ed. Médica-Panamericana Ed. Ediciones Omega 4 Edición España 1463 pp.

Avers C. 1984 Genetics 2 Edition Ed Willard Grant Press U.S.A. 644 pp.

Avers C. 1991 Biología Celular Ed. Iberoamérica 2 Edición México 748 pp.

Barzel A. y Kupiec M. 2008 Finding a math: How do homologous sequences get together for recombination? *Nature Reviews Genetics* Vol 9 27- 37 pp.

Cameron R. 1995 Oncología Práctica Ed. Médica-Pamericana 1 era Edición Argentina 729 pp.

Cooper G. y Hausman R. 2007 The Cell: A Molecular Approach Ed. ASM Press 4 Edición U.S.A. 820 pp.

Delgado A. 1990 Daño genético inducido por mutágenos positivos en células del ala de *Drosophila melanogaster* Tesis de Licenciatura Facultad de Ciencias UNAM 75 pp.

Graf U., Wurgler F.E., Katz A.J., Frei H., Juon H., Hall C.B., and Kale P.G. 1984 Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster* *Environmental Mutagenesis* 6: 153 -188 pp.

Griffiths A.J.F., Miller J.H., Suzuki D.T., Lewontin R. C., y Gelbart W. M. 2002 *Genética* Ed. McGraw-Hill-Interamericana 3 Edición España 860 pp.

Guizar J. 1994 *Genética Clínica* Ed. El Manual Moderno 2 da Edición México 830 pp.

Holde K. y Zlatanova J. 2007 Chromatin fiber structure: Where is the problem now? *Seminars in cell Developmental Biology* 18 651 - 658 pp.

Kleckner N., 2006 Chiasma formation: chromatin/axis interplay and the role(s) of the synaptonemal complex *Chromosoma* 115: 175 - 194 pp.

Klug W. y Cummings M. 1999 *Conceptos de Genética* Ed. Prentice-Hall 5 Edición España 814 pp.

Kornberg R. y Lorch Y. 2007 Chromatin rules *Nature Structural and Molecular Biology* Vol 14 No 11 986 - 988 pp.

Lisker R. y Armandares S. 2001 *Introducción a la genética humana* Ed. El Manual Moderno 2da Edición México 265 pp.

Lodish H., Berk A., Matsudaira P., Kaiser C., Krieger M., Scott M., Zipursky L., Darnell J. 2005 *Biología Celular y Molecular* 5 ta Edición Ed. Médica Panamericana Argentina 973 pp.

Manson A. 2003 *Lo esencial en célula y genética* Ed. Elsevier 2 da Edición España 232 pp.

Meaburn K. y Misteli T. 2007 Chromosome territories *Nature* Vol. 445 379 - 381 pp.

Passarge E. 2004 *Genética: Texto y Atlas* Ed. Médica-Panamericana 2da Edición Argentina 457 pp.

- Paniagua R., Nistal M., Sesma P., Álvarez-Uría M., Fraile B., Anadón R., Sáez F. 2007 Biología Celular Ed. Mc Graw-Hill Interamericana España 3 era Edición 389 pp.
- Peña A., Arroyo A., Gómez A., Gómez C., Tapia R. 1990 Bioquímica 2 Edición Ed. Noriega-Limusa México 427 pp.
- Pierce B. 2002 Genetics: A conceptual approach W.H. Freeman and Company 1 Edition 707 pp.
- Puertas M.J. 1991 Genética: Fundamentos y Perspectiva Ed. Interamericana-McGraw-Hill España 741 pp.
- Rivera R. 2002 Oncología pediátrica Ed. Intersistemas Editores 1 era Edición México 396 pp.
- Salamanca F. 1993 Citogenética Humana Ed. Médica-Panamericana 1era Edición Médica-Panamericana México 400 pp.
- Solari A. 2004 Genética Humana: Fundamentos y aplicaciones en medicina Ed. Médica- Panamericana 3 era Edición Argentina 556 pp.
- Snustad D., Simmons M., Jenkins J. 1997 Principles of Genetics John Wiley & Sons Inc U.S.A. 829 pp.
- Suzuki D., Griffiths A., Miller J. y Lewontin R. 1992 Introducción al análisis genético Ed. Interamericana-McGraw Hill 4 Edición España 800 pp.
- Tamarin R. 1982 Principles of Genetics Ed Williar Grant Press PWS Publishers U.S.A. 732 pp.
- Tamarin R. 1996 Principios de Genética Ed. Reverte 4 Edición España 607 pp.

Rojas E. 2007 Daños al DNA, reparación y riesgo para cáncer *Gaceta Biomédica* Año 12 No 8 3-4 pp.

Wanner G. y Formanek H. 2000 A New Chromosome Model *Journal of Structural Biology* 132: 147-161 pp.

Watson J., Baker T., Bell S.T., Gann A., Levin M., y Losick R. 2005 Biología Molecular del Gen Ed. Médica-Panamericana 5 Edición España 776 pp.

Watson J.D. y Crick F.H. 1953 Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid *Nature* Vol 171 No 4356 736 - 738 pp.