

IES SIERRA DE SAN QUÍLEZ

LECTURAS COMPLEMENTARIAS Y EJERCICIOS TEMA 2

Biología 2º de Bachillerato

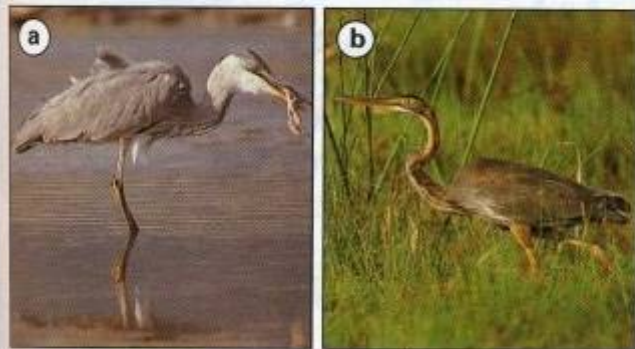
BINÉFAR-HUESCA

Lectura

EL ADN RENATURALIZADO

Los trabajos de Doty y Marmur en 1960 descubrieron que si se calentaba a unos 100 °C y durante una media hora, una molécula de ADN en doble hélice, todos los puentes de hidrógeno se rompían y las cadenas se separaban. Si posteriormente estas cadenas simples de ADN **desnaturalizado** se dejaban enfriar lentamente, se formaban algunas moléculas nuevas de ADN de doble hélice. Este ADN **renaturalizado** obtenido por reasociación presentaba un comportamiento biológico normal. Este hecho constituye un poderoso instrumento en la investigación, ya que si se parte de ADN de diferentes individuos, según el grado de reasociación de las cadenas, puede deducirse el grado de parentesco entre ellos.

1. En el caso de un homicidio, en el que se dispone de células sanguíneas del asesino, y en el que no hay ningún inconveniente por parte del acusado a que se haga un análisis de ADN, explica qué pasos deberían llevarse a cabo para realizar dicho análisis.
2. Para llevar a cabo pruebas de paternidad. En 1995 unos médicos de la Universidad de Granada probaron mediante estas técnicas que dos mellizas eran hijas de padres diferentes. Explica científicamente este caso.
3. Se ha descubierto que ciertos virus provocan la aparición de células cancerosas en el ratón. Mediante técnicas de calentamiento (fusión) se ha obtenido ADN desnaturalizado de virus, de células cancerosas y de células normales. Tras un enfriamiento lento se ha observado que el ADN vírico se ha reasociado muy bien con el de la célula cancerosa, y no lo ha hecho con el de la célula normal. ¿Qué interpretación se puede dar a este hecho? ¿Cómo se podría prevenir este tipo de cáncer?



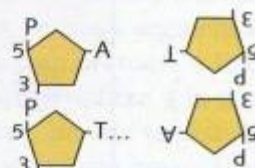
El estudio del ADN de estas tres especies de garzas nos desvelaría su proximidad evolutiva.

- a) Garza real.
- b) Garza imperial.
- c) Garza Goliath.

4. En una investigación zoológica se encuentran dificultades para establecer si tres especies son igualmente distintas o si dos de ellas son más próximas, es decir, si tienen un antepasado común. Explica cómo se podría realizar un análisis de ADN para resolver este problema y qué cabe esperar si dos de ellas tienen un mayor grado de parentesco.

Cuestiones:

1. En este esquema se observa una doble hélice de ADN en la que una hebra ha sufrido la pérdida de un segmento.



- a) ¿Qué tipo de enlaces se han roto?

- b) ¿Cuáles serán los nucleótidos que se añadirán, en qué orden, y a partir de qué extremo?

- c) ¿Qué enzima lo realizará?

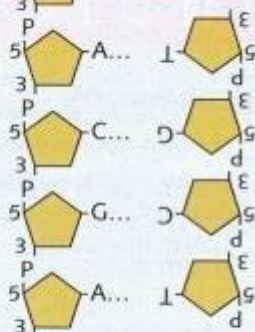
2. Respecto a la duplicación del ADN, contesta a las siguientes preguntas:

- a) ¿A qué velocidad se añadirán los nuevos nucleótidos complementarios?

- b) ¿Cómo son las dos hebras entre sí?

- c) ¿Puede tener alguna ventaja la aparición de «errores» que no perjudiquen la supervivencia del individuo?

- d) ¿Cómo se denominan, en general, estos errores?



3. ¿Qué posibles ventajas nos pueden reportar la identificación y secuenciación del genoma humano?

SOBRE EL PROYECTO GENOMA

Como sabes, los investigadores de todo el mundo implicados en el ambicioso Proyecto Genoma humano aseguran que para el año 2000 habrán finalizado su objetivo: la lectura de los 3.000 millones de «letras» (nucleótidos) que componen nuestra biblioteca genética.

Con esta información se podrá identificar el origen de las enfermedades hereditarias. Éstas podrán ser detectadas incluso en los embriones, gracias a sencillos tests genéticos y se tratarán mediante la terapia génica, el revolucionario tratamiento que permite reemplazar genes defectuosos por otros sanos, pero que no está exento de riesgos.

¿Cuál es el límite entre prevenir enfermedades hereditarias y mejorar la raza? ¿Tenemos derecho a inmiscuirnos en la evolución humana?

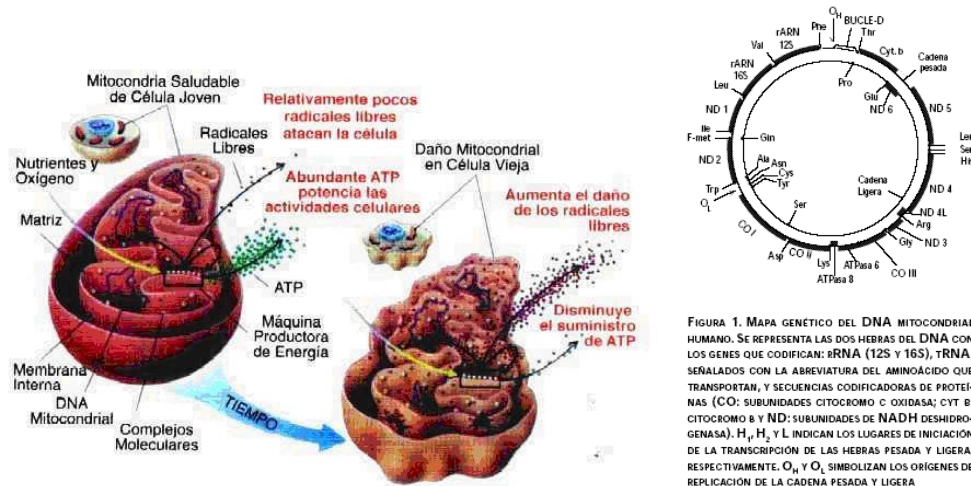
Función normal y patológica del ADN mitocondrial

Las alteraciones y deficiencias que presenta el ADN extracromosómico de las mitocondrias constituyen la fuente de innumerables enfermedades, muchas de ellas atribuidas a los achaques de la vejez.

Douglas C. Wallace (Universidad de Yale)

El chico, a sus cinco años recién cumplidos, rebosaba salud. Pero empezó a perder oído y quedó sordo del todo antes de los 18. En su historia se leía ya que era hiperactivo y había sufrido ataques esporádicos. A los 23 años tenía la visión bastante deteriorada, con cataratas, glaucoma y degradación progresiva de la retina. Los ataques adquirieron después mayor gravedad y comenzaron a fallarle los riñones. La afección renal complicada con una infección sistémica se lo llevó a la tumba a los 28 años de edad.

En la raíz de todos esos trastornos se encontraba una imperfección diminuta de sus genes, aunque no de los genes habituales, los que residen en las hebras cromosómicas de ADN del núcleo celular. Su muerte se debió a una alteración de los lazos sutiles del ADN que se aloja en las mitocondrias. Son éstas los orgánulos donde se genera la energía que la célula consume. Y cada lazo de ADN contiene la información para la síntesis de 37 de las moléculas que la mitocondria necesita para producir energía.



Aunque se sabía desde 1963 que las mitocondrias albergaban sus propios genes, hasta 1998 no quedó patente la vinculación de los errores de estos con enfermedades humanas. En mi laboratorio de la Universidad de Emory descubrimos, en el marco de un estudio realizado con varias familias, la relación existente entre una forma de ceguera que afecta a jóvenes y adultos (neuropatía óptica hereditaria de Leber) y una pequeña mutación heredada en un gen mitocondrial. Por las mismas fechas, Ian J. Holt y Anita E. Harding, del Instituto de Neurología de Londres, asociaron la delección de segmentos extensos de la molécula de ADN mitocondrial con patologías musculares de carácter progresivo.

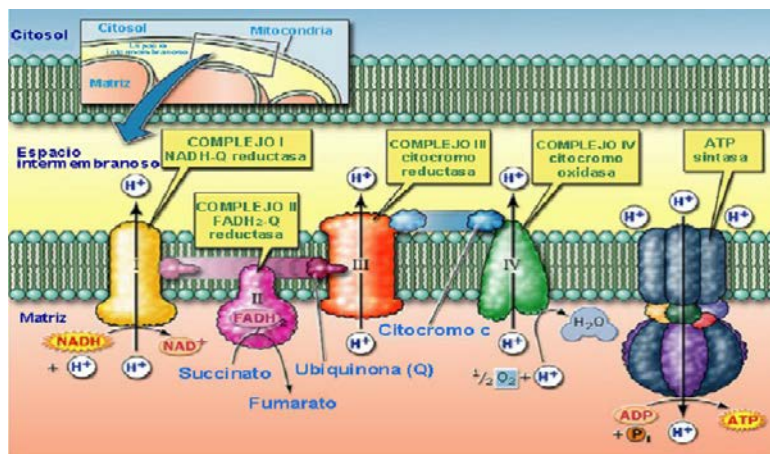
Hoy se sabe que las alteraciones experimentadas por el ADN mitocondrial causan, o al menos contribuyen, a la aparición de un amplio repertorio de enfermedades, algunas con perfiles borrosos aunque potencialmente catastróficas. De interés quizá más general: la mutación de este AN podría estar detrás de muchos casos de diabetes e infartos. Por no hablar de la documentación creciente que avala la tesis según la cual los daños sufridos por

genes de las mitocondrias desempeñarían un papel destacado en el proceso de envejecimiento y en los procesos degenerativos y crónicos habituales en edades avanzadas (Alzheimer y alteraciones motoras)

El ADN mitocondrial ha recabado también la atención por su incidencia en otros campos. Por ejemplo, en las migraciones humanas. Al comparar las secuencias de los pares de bases del ADN mitocondrial de diferentes poblaciones, se observan pautas muy interesantes acerca de la evolución y las migraciones del hombre moderno. Por su parte, los médicos forenses han empezado a sacar partido de las comparaciones a pequeña escala de las secuencias de ADN en la identificación de restos de soldados desaparecidos en combate y en la determinación de si un imputado es o no responsable de los hechos que se le atribuyen.

Resulta llamativo que se haya tardado tanto en abordar las posibilidades que ofrece el ADN mitocondrial. Sin duda, se podrían haber sospechado antes las consecuencias patológicas de las mutaciones genéticas mitocondriales. Las mitocondrias aportan el 90% de la energía que las células -y por ende, tejidos, órganos y el organismo en su conjunto- necesitan para desenvolverse.

Las mitocondrias generan energía a través de un proceso que requiere un flujo de electrones a través de una serie de complejos protéicos (la llamada cadena respiratoria). Este flujo capacita indirectamente a otro complejo (la ATP sintetasa) para sintetizar ATP (adenosin trifosfato), la molécula portadora de energía de las células.



Desde muy pronto se adivinó que cualquier cosa capaz de comprometer la producción de ATP en la mitocondria podría dañar, si no matar, las células con el consiguiente desarrollo de alteraciones funcionales en los tejidos y aparición de los síntomas. De hecho, el grupo encabezado por Rolf Luft, del Instituto Karolinska y la Universidad de Estocolmo, publicaba en 1972 que cierto fallo en la generación de energía mitocondrial provocaba un trastorno debilitante. Con los años, acabó averiguándose que los tejidos y órganos que antes se resienten de la caída de producción energética son, en orden decreciente, el sistema nervioso central, músculo cardíaco y esquelético, riñones y tejidos productores de hormonas.

Desde el principio se buscó explicación a las alteraciones mitocondriales en mutaciones de genes nucleares, algunos de los cuales dan lugar a componentes de las mitocondrias. Llegados los años noventa, sin embargo, viose que el ADN mitocondrial portaba la información de un número notable de moléculas: no sólo especificaba la estructura de 13 proteínas (cadenas de aminoácidos) que eran subunidades de la ATP

sintetasa y de los complejos de la cadena respiratoria, sino que determinaba también otras 24 moléculas de ARN que intervenían en la síntesis de esas subunidades en las mitocondrias. Se infería de esas observaciones que las mutaciones del ADN mitocondrial podrían redundar en las proteínas mitocondriales o en el ARN y, de ese modo, minar la capacidad productora de energía de las mitocondrias, lo que, a su vez, sería causa de enfermedades. A esa posibilidad se aludía ya en las publicaciones de 1998.

Extrañas reglas de la herencia

Desde 1998 se han venido descubriendo rasgos peculiares de síndromes que brotan de deficiencias del ADN mitocondrial. Así, los trastornos en cuestión son a menudo hereditarios, aunque su pauta de transmisión difiere de la exhibida por las enfermedades que resultan de mutaciones experimentadas en genes nucleares. Y los síntomas que se manifiestan son más impredecibles que los causados por mutaciones genéticas nucleares.

Los procesos que sirven de cauce para la herencia de las enfermedades genéticas del núcleo comienzan por la fecundación de un óvulo por un espermatozoide. El embrión mononuclear que surge de esta unión posee un núcleo con una dotación de parejas concordantes de cromosomas cargados de genes: unos 30000 genes extendidos a lo largo de 3000 millones de pares de bases, procedentes de la madre y otros tantos del padre. Esta célula y sus descendientes se replican repetidamente hasta formar el niño. Antes de que las células se dividan, las células duplican su ADN. Los progenitores legan pues su propio complemento de cromosomas paternos y maternos, a la célula hija. De este modo, cada célula del organismo lleva genes idénticos e idénticas mutaciones.

¿Qué ocurre con la herencia mitocondrial? Los genes que se extienden a lo largo de los 16569 pares de bases de cada lazo de ADN mitocondrial ser heredan sólo de la madre, a través de las mitocondrias del óvulo. El espermatozoide no aporta, en este sentido, una contribución permanente. Además, cada óvulo, igual que el resto de las células del organismo, porta varios centenares de mitocondrias; cada mitocondria, a su vez, puede contener varias moléculas de ADN. Aunque la célula progenitora viene a duplicar el número de mitocondrias y de moléculas de ADN mitocondrial antes de dividirse, y provee de cantidades aproximadamente iguales a cada célula hija, la progenitora no determina qué mitocondrias específicas irán a cada una de las células hijas.

Quiere ello decir que, si un óvulo fecundado lleva una mutación en alguna fracción de su ADN mitocondrial (condición que recibe el nombre de heteroplasmia), una célula hija puede heredar una proporción mayor de mitocondrias que porten el ADN mutante, al tiempo que la otra heredará una proporción mayor de mitocondrias con ADN normal. Las leyes de la probabilidad dictan que, a medida que las células continúan reproduciéndose, las poblaciones de ADN mitocondrial en las células hijas emergentes se moverán hacia la uniformidad (homoplasmia): tenderán a estar constituidas por moléculas predominantemente normales o predominantemente mutantes.

Alta velocidad de mutación.

Para complicarlo todavía un poco más, conviene recordar que el ADN mitocondrial presenta una tasa de mutación espontánea 10 veces superior a la del DNA nuclear. Este

fenómeno puede estar causado porque en la mitocondria se producen continuamente radicales de oxígeno, como consecuencia de la oxidación final de los compuestos de carbono, que pueden dañar a un DNA que no está protegido por proteínas reparadoras. Debido a este hecho, la variación de secuencias entre individuos de una misma especie es muy grande, hasta unos 70 nucleótidos, y en un mismo individuo se estará generando, a lo largo de la vida, una pequeña heterogeneidad en el ADN mitocondrial. De este modo, se ha llegado a proponer que la disminución en la capacidad respiratoria de los tejidos que tiene lugar en el envejecimiento pueda ser debida a una acumulación de este daño mitocondrial. Esta teoría tiene su primera evidencia en un trabajo del grupo de Attardi, que documentó que las mitocondrias se deterioran con la edad como consecuencia de la acumulación de mutaciones. Las variaciones de secuencia existentes entre diferentes individuos han resultado muy útiles para estudios antropológicos, etnológicos y forenses, y es la base de la hipótesis de que el hombre desciende de una mujer que vivió en Africa hace unos 250 000 años (“Eva mitocondrial”)

Si como parece los radicales libres son los responsables de la acumulación de mutaciones somáticas en el ADM mitocondrial y con ello condicionan la pauta del envejecimiento, entonces el tratamiento que bloquee su producción intramitocondrial protegerá las alteraciones del ADN mitocondrial. Dicha protección contribuirá a frenar el envejecimiento y retrasar el inicio de enfermedades relacionadas con la edad. El tratamiento en cuestión podría consistir en el uso, a lo largo de toda la vida, de antioxidantes efectivos. Los trabajos preliminares con animales permiten abrigar esperanzas en esa dirección. Para frenar el paso del envejecimiento podría también optarse por poner coto a la multiplicación de las moléculas mutadas de ADN mitocondrial en el músculo u otros tejidos. Para lograrlo, es preciso conocer de antemano las interacciones moleculares a través de las que los núcleos detectan la caída de energía local y estimulan la reproducción de mitocondrias aberrantes en su entorno.

Hace apenas dos décadas nadie sospechaba la implicación de las mutaciones del ADN mitocondrial en el envejecimiento y en múltiples enfermedades degenerativas crónicas. Hoy el estudio de ese ADN cosecha sin cesar nuevas pistas para ahondar en las causas y el desarrollo de muchas patologías; y, mejor aún, sugiere tratamientos plausibles de las mismas y formas de prevenir su progresivo agravamiento. Si se demuestra que las hipótesis sobre el papel del ADN mitocondrial en el envejecimiento y en las enfermedades son acertadas, la biología de las mitocondrias pasará a ocupar un lugar central en la lucha contra el sufrimiento humano.



Las enfermedades originadas por daños en el genoma mitocondrial tienen en común el estar producidas por una deficiencia en la biosíntesis de ATP, ya que toda la información que contiene este DNA está dirigida a la síntesis de proteínas componentes del sistema Oxphos. Las manifestaciones de estas enfermedades son muy variadas y pueden afectar a todos los órganos y tejidos, ya que la síntesis de ATP se produce en todos ellos y a cualquier edad. Estas pueden presentar una serie de aspectos clínicos, morfológicos y bioquímicos muy concretos que dan lugar a síndromes bien caracterizados pero, en la mayor parte de los casos, principalmente en edad pediátrica, los síntomas son muy poco informativos y es sólo la presencia de anomalías neurológicas, a veces acompañadas de aumento de ácido láctico y de otros síntomas clínicos secundarios que afectan a diversos órganos, lo que da alguna orientación en el diagnóstico de una enfermedad mitocondrial. Entre las manifestaciones clínicas más comunes se encuentran una o varias de las siguientes: desórdenes motores, accidentes cerebrovasculares, convulsiones, demencia, intolerancia al ejercicio, ptosis, oftalmoplejia, retinopatía pigmentaria, atrofia óptica, ceguera, sordera, cardiomiopatía, disfunciones hepáticas y pancreáticas, diabetes, defectos de crecimiento, anemia sideroblástica, pseudo obstrucción intestinal, nefropatías, acidosis metabólica y otras más secundarias.

Desde que en 1998 se describieran las primeras enfermedades causadas por daños en el ADN mitocondrial, se han encontrado más de 150 mutaciones (más 100 deleciones y unas 50 mutaciones puntuales) asociadas a enfermedades humanas. El interés por su estudio ha crecido enormemente debido al gran aumento de pacientes diagnosticados con estos trastornos y a que se presentan desde en recién nacidos hasta en adultos de todas las edades. Además, muchas de estas mutaciones se transmiten por línea materna, como se ha indicado anteriormente, lo que hace que el diagnóstico en un individuo pueda tener implicaciones en muchas generaciones de una familia.

Neuropatía óptica hereditaria de Leber. (LHON) se caracteriza por la pérdida bilateral de la visión central, originada por atrofia del nervio óptico. Aparece en la segunda o tercera década de la vida y afecta a más hombres que a mujeres. Aunque normalmente sólo la visión está afectada, hay casos en los que también aparecen trastornos en la conducción cardíaca, neuropatía periférica y ataxia cerebelar.

Síndrome de neuropatía, ataxia y retinopatía pigmentaria. Este síndrome está caracterizado por debilidad muscular neurogénica, ataxia y retinitis pigmentosa. Suele ir acompañado de demencia, convulsiones y neuropatía sensorial axonal, presenta una herencia materna y se ha asociado a una mutación puntual, T8993G, en el gen de la subunidad 6 de la ATPasa (cuadro I

Síndrome de Leigh de herencia materna. El síndrome de Leigh de herencia materna (MILS) es una enfermedad muy heterogénea que se puede presentar asociada a diferentes tipos de herencia, autosómica recesiva, ligada al cromosoma X o materna (mitocondrial) según el gen que esté dañado. Es una enfermedad devastadora que se caracteriza por trastornos degenerativos multisistémicos que aparecen en el primer año de vida, disfunciones del tallo cerebral y de los ganglios basales, desmielinización, regresión psicomotora, retraso en el desarrollo, ataxia, convulsiones, neuropatía periférica.

Síndrome de epilepsia mioclónica con fibras rojo-rasgadas (MERRF). Este síndrome de herencia materna, está caracterizado por epilepsia mioclónica, convulsiones generalizadas y miopatía con presencia de fibras rojorazgadas. Otros síntomas clínicos que pueden acompañar a los anteriores son demencia, sordera, neuropatía, atrofia óptica, fallo respiratorio y cardiomiopatía. Aparece tanto en la infancia como en edad adulta y es de curso progresivo.

Síndrome de encefalomiopatía mitocondrial con acidosis láctica y episodios de accidentes cerebro-vasculares (MELAS). Se trata de una encefalomiopatía mitocondrial, de herencia materna, caracterizada por accidentes cerebrovasculares producidos a edad temprana que provocan una disfunción cerebral subaguda y cambios en la estructura cerebral, y por acidosis láctica. Estos caracteres suelen ir acompañados de convulsiones generalizadas, dolor de cabeza, sordera, demencia y, a veces, presenta fibras rojo-rasgadas.

Diabetes de herencia materna con sordera. Además de los dos tipos clásicos de diabetes dependiente y no dependiente de insulina (tipo 1 y 2, respectivamente), se ha descrito recientemente un nuevo tipo de diabetes asociada a sordera, que no encuadra dentro de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud.

Otras enfermedades del mtDNA asociadas a mutaciones puntuales. Además de las enfermedades descritas anteriormente, hay otras muchas que se han asociado a otras mutaciones puntuales (cuadro I). Entre ellas, se estudia la posible implicación del mtDNA en enfermedades neurodegenerativas como Parkinson y Alzheimer.

Actividades

- 1- ¿Qué se entiende por ADN mitocondrial?
- 2- ¿Qué función tienen los genes mitocondriales?
- 3- ¿De qué forma se transmiten los genes mitocondriales?
- 4- ¿Qué consecuencias pueden acarrear las mutaciones en los genes mitocondriales?

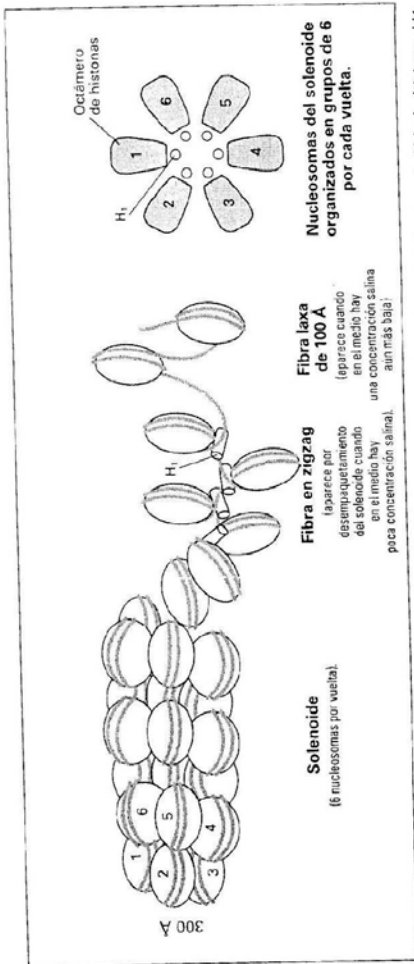


Fig. 1 Modelo de solenoide. Para la formación del solenoide es imprescindible la histona H1, que forma el eje central de la fibra de 300 Å.

bandas no está claro en muchas especies. Si se conoce en los llamados **cromosomas gigantes**, como los de las glándulas salivales de *Drosophila*; en ellos, cada banda clara corresponde a un gen (ver documento 3).

■ Estructura de los cromosomas

Los cromosomas están constituidos por una fibra de ADN de unos 300 Å de diámetro, que se encuentra fuertemente replegada. Esto permite concentrar una gran cantidad de ADN en un pequeño volumen, lo que facilita su movilidad durante la división del núcleo. Actualmente se acepta el modelo del solenoide para explicar la estructura de la fibra de 300 Å, mientras que a los siguientes niveles de condensación, todavía desconocidos, se los denomina «niveles superiores de empaquetamiento».

a) La fibra de cromatina de 300 Å

La fibra de cromatina de 300 Å es el segundo nivel de empaquetamiento. Se forma por el enrollamiento sobre sí misma de la fibra condensada de cromatina de 100 Å, es decir, fibras que contienen histonas H1. Según el modelo del solenoide, que es el más aceptado, se invierten unos seis nucleosomas el eje central de la fibra de 300 Å (fig. 14). Esto implica un acortamiento de, aproximadamente, cinco veces la longitud del «collar de perlas». En el núcleo interfásico, la mayor parte de la cromatina (eucromatina) está en forma de fibras de 100 Å. En los cromosomas el nivel más bajo de empaquetamiento es la fibra de 300 Å.

b) Niveles superiores de empaquetamiento

Con el empaquetamiento que supone la fibra de 300 Å sólo se consigue reducir entre 3,5 y 40 veces la longitud de la fibra de ADN. Sin embargo, el grado

de empaquetamiento en el núcleo es del orden de 100 a 1.000, y en los cromosomas es casi de 10.000. Por ejemplo, un cromosoma humano que mide sólo 5,5 µm de longitud, posee 4 cm de fibra de ADN, lo que supone una reducción del orden de 7.000.

Se ha observado que la fibra de 300 Å forma una serie de **bucles**, de entre 20.000 y 70.000 pares de bases de longitud, que posiblemente estabilizan ciertas proteínas del eje del cromosoma. Muchos autores consideran que en el cromosoma existe un eje de proteínas no histónico, el llamado **armazón central**, o **andamio**, sobre el que se anclan los bucles (fig. 15). Los **dominios estructurales en forma de bucles** constituyen el tercer nivel de empaquetamiento. Se encuentran arrollados sobre sí mismos, formando prominencias de unos 600 Å de diámetro.

Aún no se conoce bien cuáles son los siguientes niveles de empaquetamiento. En 1990 se propuso un modelo de estructura del cromosoma, según el cual seis bucles forman una estructura retorcida, llamada **roseta**, y treinta rosetas seguidas, dispuestas en espiral, forman un rodillo, que constituye el cuarto nivel de empaquetamiento. El quinto y último nivel, el **cromosoma**, estaría formado por la sucesión de rodillos. Según este modelo, las bandas de diferente coloración que se aprecian en algunos cromosomas se debían al grado de compactación de los rodillos entre sí.

■ Función de los cromosomas

La función básica de los cromosomas es facilitar el reparto de la información genética contenida en el ADN de la célula madre entre sus dos células hijas. Para ello previamente se ha de duplicar esta información. El ADN de los cromosomas se halla inactivo, ya que está tan fuertemente empaquetado que no puede transcribirse. Sólo en algunos casos, como en los

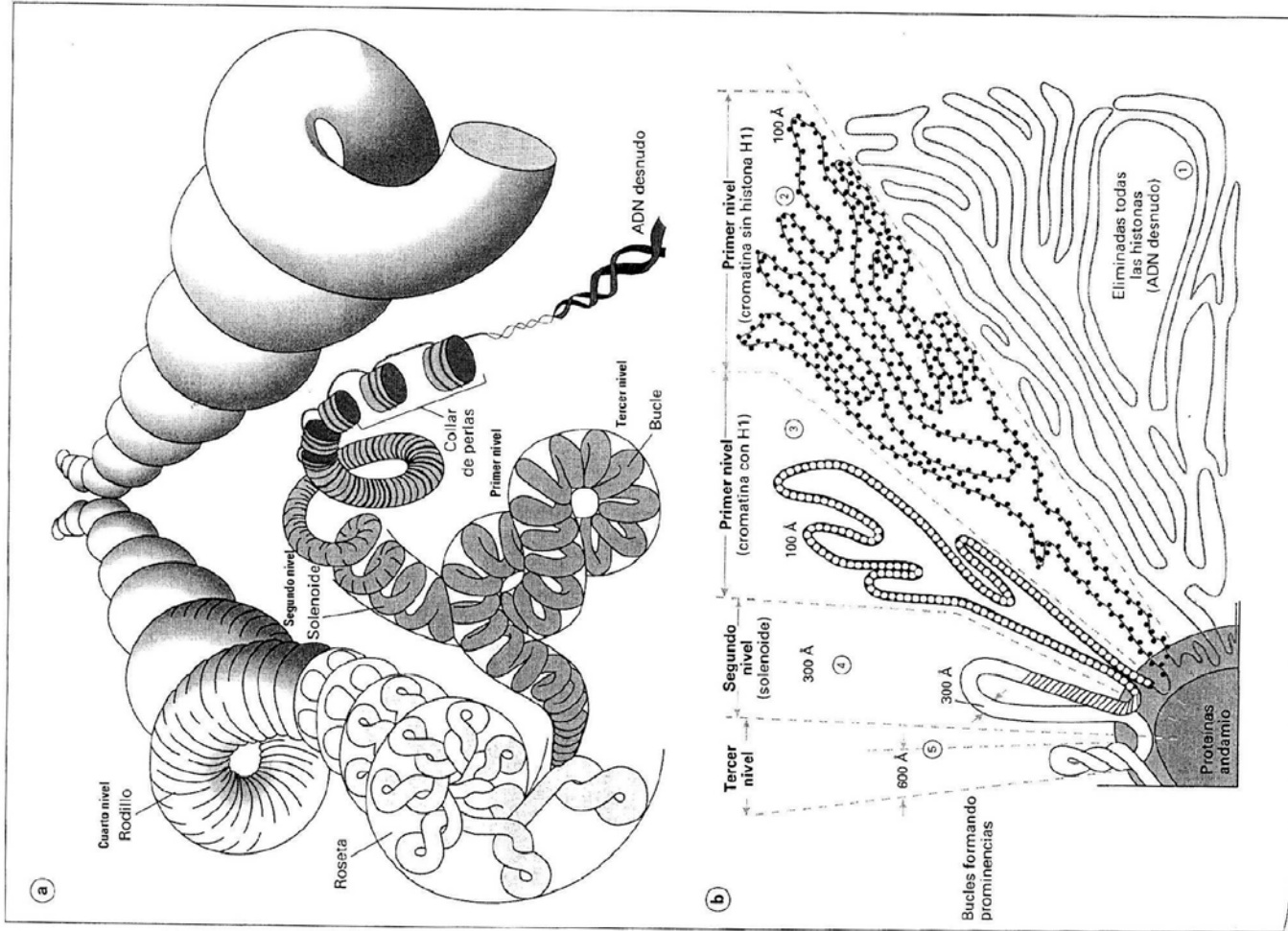


Fig. 2 a) Esquema hipotético de la estructura del cromosoma. b) Diferentes niveles de empaquetamiento, desde el ADN desnudo hasta los bucles o tercer nivel de empaquetamiento.