



REPARACION DEL ADN: EL FIEL ENTRE LA VIDA Y EL OCASO CELULAR

Autores:

Aliena Núñez González¹

¹Residente de Tercer Año de Bioquímica Clínica, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad de Ciencias Médicas de Granma, Cuba. alienangzalez937@gmail.com

Resumen

Introducción: El ADN es la molécula que contiene la información indispensable para el desarrollo armónico del organismo.

Objetivo: Describir los fundamentos moleculares implicados en la reparación del ADN y su transcendencia en la homeostasia celular.

Materiales y métodos: Se realizó una investigación de tipo revisión bibliográfica. Para identificar los documentos que se revisarían se consultó la base bibliográfica PubMed/Medline, incluyendo los trabajos de los últimos diez años.

Resultados: Los mecanismos de reparación del ADN garantizan la estabilidad de esta molécula, sin embargo, en la mayoría de las ocasiones existen brechas en este proceso que con el paso del tiempo conllevan al desarrollo de entidades morbosas como las enfermedades crónicas no trasmisibles y en última instancia la transformación cancerosa.

Conclusiones: Se concluye que los mecanismos de reparación del ADN aseguran en gran medida la conservación de la homeostasia celular, siendo prioritario dirigir el espectro investigativo hacia aquellas áreas que contemplen el daño oxidativo al ADN como uno de los más trascendentales en el desarrollo de la patología molecular y celular.

Palabras clave: ADN, reparación del ADN, homeostasia celular.

Introducción

El ADN es la molécula que contiene la información indispensable para el desarrollo armónico del organismo. Este hecho capital en la evolución humana se basa en los dos destinos fundamentales hacia los que se dirige la información genética encerrada en la doble hélice. La primera misión del ADN es replicarse para transmitir el mensaje molecular hacia las células hijas y la segunda es expresar dicha información mediante la síntesis proteica.¹

Es oportuno señalar como el dogma de la Biología Celular y Molecular es compatible con la transmisión de la información contenida en la secuencias de bases nitrogenadas del ADN hacia la transcripción y como último peldaño de la escalera evolutiva, hacia la traducción o síntesis proteica, ascendiendo desde el genotipo hacia el fenotipo.²

De esta manera, un cambio en la secuencia de bases del ADN supondrá no solo una transformación en la información que se transmitirá a las células hijas en el próximo ciclo celular, sino que, a la larga existirá una repercusión en el proceso de traducción genética. El ADN puede ser dañado por numerosos tipos de sustancias endógenas y exógenas que causan modificaciones de nucleótidos, deleciones, inserciones, inversiones de secuencia y transposiciones.³

Algunas de estas lesiones son secundarias a modificaciones químicas por agentes alquilantes, como numerosos carcinógenos, especies reactivas de oxígeno y radiaciones ionizantes. Tanto el azúcar como las bases del ADN pueden sufrir modificaciones, contabilizando alrededor de 10.000-100.000 cambios en el ADN por célula y día. La naturaleza de estas es muy variable: modificación de bases aisladas, roturas de una o dos hebras y formación de enlaces transversales entre las bases o entre las bases y las proteínas.^{1, 2}

Probablemente, el tipo más frecuente de daño al ADN es por oxidación. Este tipo de lesiones aumentan en la inflamación, el tabaquismo, el envejecimiento y enfermedades relacionadas como la aterosclerosis, la diabetes y las del tipo neurodegenerativas. De no existir el equilibrio necesario entre los mecanismos de reparación y el número de lesiones, estas pueden dar lugar a cambios permanentes en la estructura del ADN, lo cual favorece la pérdida de la función celular.³

La maquinaria molecular de la célula ha desarrollado unos mecanismos muy eficientes para reparar la molécula de ADN. No obstante, es preciso tener en cuenta las

implicaciones del estrés oxidativo como un fuerte antagonista en el éxito que podrían tener estos mecanismos.

Objetivo

El objetivo de la presente investigación es describir los fundamentos moleculares implicados en la reparación del ADN y su transcendencia en la homeostasia celular.

Materiales y métodos

Se realizó una investigación de tipo revisión bibliográfica. Para identificar los documentos que se revisarían se consultó la base bibliográfica PubMed/Medline, SciELO y Scopus incluyendo los trabajos de los últimos diez años. A partir de ello se realizó un análisis cualitativo, según los propósitos trazados en esta investigación.

Resultados y discusión

La reparación directa del ADN es realizada por la acción de una única enzima capaz de reparar la lesión, sin necesidad de substituir la base dañada. Así, la estructura original de la molécula del ADN revierte la lesión. Existen tres mecanismos en la reparación directa: fotorreactivación, alquiltransferencia y desmetilación oxidativa.⁴

La radiación UV (longitud de onda entre 250 y 320 nm), puede ocasionar alteraciones químicas en las bases del ADN. Los fotoproductos de estas reacciones originan los dímeros de pirimidinas ciclobutano (CPD), pirimidina y pirimidonina que causan efectos deletéreos como la inhibición de la replicación y de la transcripción, el aumento en la aparición de mutaciones, la detención del ciclo celular y la muerte celular.^{4, 5}

Los efectos mutagénicos generados por la radiación UV son invertidos por un proceso llamado fotorreactivación, catalizado por una fotoliasa, que posee dos cromóforos que captan un fotón, cuya energía es utilizada para revertir el dímero, es decir quiebra el enlace covalente entre las pirimidinas reparando el daño en el ADN.⁶

Las fotoliasas han sido encontradas en bacterias, hongos, plantas y vertebrados, excepto en mamíferos placentarios. El genoma humano tiene dos genes CRY (genes que codifican para la proteína cryptochroma) homólogos a las fotoliasas, los cuales codifican fotorreceptores de luz en la regulación del ritmo circadiano, pero no en la fotorreactivación de daños al DNA.⁷

La alquiltransferencia es reconocida por la remoción de aductos alquilo en las bases del ADN. Generalmente estos grupos son incorporados al ADN como agentes químicos alquilantes (compuestos electrofílicos altamente reactivos con afinidad por centros

nucleofílicos en macromoléculas orgánicas) como el metil-metano-sulfonato (MMS) o enzimáticos (metilasas).⁸

Una de las alteraciones más conocidas en el ADN es la metilación de restos de guanina para formar O 6 -metilguanina para lo cual la célula utiliza enzimas *suicidas* llamadas alquiltransferasas, que desplazan el grupo metilo desde la guanina al centro activo de la cisteína, llevando a la inactivación irreversible de la proteína O 6 -metilguanina-ADN metiltransferasa (MGMT).⁹

Otro caso especial lo constituye la desmetilación oxidativa. Este tipo de reparación remueve daños por metilaciones en el ADN que pueden ser citotóxicas y con frecuencia presentan acción mutagénica, causada por compuestos nocivos que se producen de forma endógena como estrés oxidativo, inflamación, peroxidación de lípidos, infecciones y otros procesos metabólicos naturales como la alteración de la microbiota intestinal.⁷

Los sistemas de reparación indirecta son aquellos que intervienen sobre el ADN, durante la replicación (fase S del ciclo celular), transcripción o sobre hebras de ADN fragmentadas. La ADN polimerasa y algunos de los componentes moleculares del mecanismo de replicación, llevan a cabo la supervisión de la copia recién sintetizada.¹⁰

Puesto que el ADN se replica de una forma semiconservativa, cada hebra de esta molécula genera una nueva, lo cual permite que los errores introducidos durante la replicación puedan ser corregidos por los mecanismos de reparación por escisión de la lesión. Por lo tanto, si los nucleótidos en una hebra presentan un daño, pueden ser eliminados utilizando como molde a la cadena complementaria para la síntesis de la reparación.¹¹

Existen tres mecanismos en la reparación indirecta: reparación por escisión de bases o BER (Base Excision Repair), reparación por escisión de nucleótidos o NER (Nucleotide Excision Repair) y reparación por apareamiento erróneo (Mitsmach Repair). El principio de los tres mecanismos de reparación implica: corte, empalme de la región dañada e inserción de nuevas bases, seguido por la ligación de la cadena.¹²

En eucariotas existen dos alternativas de reparación NER, global genome repair (GGR) y transcription coupled repair (TCR). Estas vías son iniciadas de manera diferente conforme al daño del ADN. El GGR es un proceso aleatorio que se produce lentamente, activado en regiones que no transcriben, mientras el TCR es un proceso que está

estrechamente relacionado con la RNA polimerasa II, altamente específico y eficiente el cual es activado en zonas de transcripción. La deficiencia de estas vías de reparación está relacionada al síndrome de Cockayne (CS), xeroderma pigmentoso (XP), cáncer e inestabilidad genómica.¹¹

Uno de los daños más severos al ADN, son los cortes en cadena doble (DSB), los cuales surgen por múltiples causas, tanto endógenas como exógenas. Los DSB pueden inducir inestabilidad genómica por translocaciones y pérdida de material genético, entre otros. En eucariotas un DSB no reparado puede provocar la inactivación de un gen esencial, lo cual es suficiente para inducir muerte celular por apoptosis. Las células contienen toda una maquinaria enzimática encargada de realizar con alta efectividad la reparación de DSB.¹³

Sin embargo, cuando este sistema falla o alguna proteína esencial no está presente, el corte puede persistir y provocar alteraciones importantes en el genoma. Existen dos vías principales para la reparación de DSB, la recombinación homóloga y la recombinación de extremos no homólogos, las cuales son libres y propensas a errores respectivamente.¹⁴

Todos los organismos pueden sufrir ataques masivos en su material genético por diversos agentes que pueden alterar la estructura química básica del ADN, como la luz ultravioleta, metabolitos, especies reactivas de oxígeno, entre otras. Este tipo de daños dispara mecanismos de respuesta inmediata en el ADN, que se caracterizan por tener niveles superiores de proteínas implicadas en reparación y recombinación.¹⁵

La inducción de la respuesta celular al daño implica la activación de los sistemas de puntos de control del ciclo celular, reparación del ADN, cambios en expresión génica, reconstrucción de la cromatina y apoptosis. En procariotas una de estas opciones es la respuesta SOS (por la señal internacional de auxilio "Save Our Souls") o sistema de emergencia celular, que ante la detección de agentes genotóxicos incrementa la expresión de un grupo de genes cuya función es la de reparar el daño en el ADN, y conferir a la célula más oportunidades de sobreponerse y sobrevivir en condiciones de estrés.¹⁶

SOS es una respuesta de emergencia celular, que consiste en inducir la expresión de más de 60 genes implicados en la reparación del ADN, y mediada por el circuito RecA/LexA encargado de regular y modular importantes funciones bacterianas en

procesos de reparación, con el objetivo de restaurar la división celular y con ello garantizar su supervivencia.¹⁷

La proteína LexA es un regulador negativo que reconoce una secuencia consenso en el operador, causando una represión transcripcional de todos los genes SOS, incluido su propio gen. El represor LexA se proteoliza induciendo la expresión génica SOS gracias a la presencia de RecA, el regulador positivo del circuito que es activado mediante la unión de las cadenas sencillas de ADN con ATP, después de la interacción con moléculas de señalización. Finalmente, una vez reparados los daños, RecA se inactiva y LexA reprime nuevamente los genes del operador.¹⁸

La oxidación de la desoxirribosa tiene un papel fundamental en el estrés oxidativo, tanto como lesión individual como parte de una lesión más compleja del ADN. Esta puede ser oxidada en cualquiera de las cinco posiciones proporcionando como resultado en múltiples productos. Dicha alteración puede conllevar la pérdida de una base nitrogenada o la rotura de la cadena del ADN.¹⁶

La 8-oxoguanina (8-oxo-G) es una mutación que puede sufrir la Guanina. Como se puede ver en la Figura 7, la 8-oxo-G se caracteriza por la oxidación del único carbono del anillo que tiene un hidrogeno, el carbono 8 de la Guanina, y la hidrogenación del nitrógeno contiguo formando un carbonilo con dos grupos amina adyacentes. Aun así, las alteraciones de la molécula, la aparición de un grupo carbonilo y la adición de un hidrogeno a uno de los nitrógenos juega un rol en la replicación del ADN, produciendo substituciones Guanina-Timina y Adenina-Citosina.^{17, 18}

El motivo por el cual la 8-oxoguanina provoca substituciones Citosina-Adenina cuando los átomos encargados del enlace Watson y Crick no han sido alterados se debe a que esta substitución se produce en base a otro emparejamiento conocido como el emparejamiento Hoogsteen. En el emparejamiento Watson y Crick ambas bases nitrogenadas se enlazan por la llamada cara anti, pero mediante la rotación del enlace N-glucosídico una base nitrogenada puede enlazar por otra cara, la cara syn.¹⁹

Un emparejamiento Hoogsteen se produce entre una base nitrogenada en posición anti y otra en posición syn. En el caso del emparejamiento Hoogsteen la 8-oxoG si es distinta a la guanina, pudiendo enlazar con la adenina. La proteína polimerasa II puede introducir erróneamente una adenina debido a este tipo de emparejamientos y este

error de replicación comúnmente evade los mecanismos de corrección de errores habituales del ADN.²⁰

La 8-oxoguanina es una lesión que se produce 10^3 veces al día en células normales de nuestro organismo y hasta 10^5 en células cancerosas. Es la responsable de substituciones de la citosina por adenina y en una posterior replicación la guanina es substituida por una timina, debido primero al emparejamiento Hoogsten mencionado en el apartado anterior y posteriormente debido a la replicación normal de la hebra complementaria formada.¹⁹

Dicha substitución es relativamente frecuente, pudiendo variar del 10% al 75% el porcentaje de 8-oxo-G que dan lugar a una substitución de citosina por guanina convirtiéndose en una abundante fuente de mutaciones para la célula. En la bacteria *Escherichia coli*, la 8-oxo-G también parece causar substituciones de adenina por citosina al incorporarse 8-oxo-G en la replicación por medio de la enzima 8-oxo-dGTP difosfatasa delante de la timina. Por suerte, dicha substitución no ocurre en los mamíferos.²⁰

Estudios realizados con ratones descubrieron que al inhibirse las enzimas encargadas de corregir dichas mutaciones (OGG1, MUTYH y MTH1) la incidencia de carcinogénesis podía aumentar en varios órdenes de magnitud, dependiendo de la enzima inhibida. La inhibición de las tres enzimas reparadoras resultó en una esperanza de vida muy corta, muriendo el 50% de los ratones en 57 semanas, con un 35% de estos con tumores visibles macroscópicamente.²¹

Los estudios muestran que se requiere la actividad del MTH1 para la supervivencia de las células cancerígenas pero no para las células normales. Esto es debido a que las células cancerígenas se ven sometidas a elevados niveles de estrés oxidativo, especialmente en los precursores de los nucleótidos. La MTH1 previene la incorporación de dichos nucleótidos al ADN evitando que esta muera por acumulación de 8-oxo-G. De esta forma, previniendo la actividad del MTH1, se puede lograr provocar la muerte celular de las células cancerígenas, evitando que formen tumores.^{19, 20, 21}

Además de la carcinogénesis, el estrés oxidativo es considerado importante en la etiología de diversas enfermedades neurodegenerativas, como puedan ser el Parkinson, el Alzheimer o el Huntington. Se han encontrado niveles de 8-oxoG anormalmente altos en el ADN mitocondrial y nuclear del cerebro de dichos pacientes. En estudios con

ratones se encontró una elevada vulnerabilidad a dicha degeneración con doble deficiencia en OGG1 y MTH.¹⁹

Las células han desarrollado múltiples estrategias para prevenir los efectos perniciosos de la oxidación de sus bases nitrogenadas siendo la 8-oxo-G la más controlada al ser el producto más estable del daño oxidativo. La 8-oxoguanina glicosilasa 1 (OGG1) corrige los emparejamientos 8-oxo-G-Citosina, la MUTYH se encarga de las adeninas que han sido incorrectamente colocadas debido a la 8-oxo-G y la enzima MTH1 hidroliza el 8-oxodGTP (8-oxoguaninosin trifosfato) para evitar que se incorpore 8-oxo-G al ADN.²¹

Conclusiones

Se concluye que los mecanismos de reparación del ADN aseguran en gran medida la conservación de la homeostasia celular, siendo prioritario dirigir el espectro investigativo hacia aquellas áreas que contemplen el daño oxidativo al ADN como uno de los más trascendentales en el desarrollo de la patología molecular y celular.

Bibliografía

1. Nakamura J, Mutlu E, Sharma V, Collins L, Bodnar W, Yu R, et al. The endogenous exposome. DNA Repair (Amst) 2014. p. 3-13.
2. Crenshaw C.M, Nam K., Oo K., Kutchukian P.S., Bowman B., Karplus M., Verdine G. Enforced presentation of an extrahelical guanine to the lesion recognition pocket of human 8-oxoguanine glycosylase, hOGG1. Journal of Biological Chemistry (2012) 287 24916-24928.
3. Damsma G., Cramper P., Molecular basis of transcriptional mutagenesis at 8-oxoguanine. Journal of Biological Chemistry (2009) 284 31658-31663.
4. Dedon P.C. The chemical toxicology of 2-deoxyribose oxidation in DNA. Chemical research in toxicology (2008) 21 206-219.
5. Drabløs F., Feyzi E., Aas P.A., Vaagbø C.B., Kavli B., Bratlie M. S., Peña-Díaz J., Otterlei M., Slupphaug G., Krokan H.E. DNA Repair (2004) 3 1389-1407.
6. Jena N.R., Mishra P.C. Formation of ring-opened and rearranged products of guanine: mechanisms and biological significance. Free Radical Biology and Medicine (2012) 53 81-94.
7. Markkanen E. Hübscher U., Van Loon B. Regulation of oxidative DNA damage repair: the adenine: 8-oxo-guanine problem. Cell Cycle (2012) 111070-1075.

8. Nakabeppu Y. Cellular levels of 8-oxoguanine in either DNA or the nucleotide pool play pivotal roles in carcinogenesis and survival of cancer cells. *International journal of molecular sciences* (2014) 15 12543-12557.
9. Van Loon B., Markkanen E., Hübscher U. Oxygen as a friend and enemy: how to combat the mutational potential of 8-oxo-guanine. *DNA repair* (2010) 9 604-616. de Sousa, M.M.L.; Ye, J.;
10. Luna, L.; Hildrestrand, G.; Bjørås, K.; Scheffler, K.; Bjørås, M. Impact of Oxidative DNA Damage and the Role of DNA Glycosylases in Neurological Dysfunction. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 12924. <https://doi.org/10.3390/ijms222312924>
11. Nakabeppu, Y.; Oka, S.; Sheng, Z.; Tsuchimoto, D.; Sakumi, K. Programmed cell death triggered by nucleotide pool damage and its prevention by MutT homolog-1 (MTH1) with oxidized purine nucleoside triphosphatase. *Mutat. Res.* 2010, 703, 51–58. [CrossRef] [PubMed]
12. Krokeide, S.Z.; Laerdahl, J.K.; Salah, M.; Luna, L.; Cederkvist, F.H.; Fleming, A.M.; Burrows, C.J.; Dalhus, B.; Bjoras, M. Human NEIL3 is mainly a monofunctional DNA glycosylase removing spiroimindiohydantoin and guanidinohydantoin. *DNA Repair* 2013, 12, 1159–1164. [CrossRef] [PubMed]
13. Liu, M.; Bandaru, V.; Bond, J.P.; Jaruga, P.; Zhao, X.; Christov, P.P.; Burrows, C.J.; Rizzo, C.J.; Dizdaroglu, M.; Wallace, S.S. The mouse ortholog of NEIL3 is a functional DNA glycosylase in vitro and in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, 107, 4925–4930. [CrossRef]
14. Cavalli, G.; Heard, E. Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature* 2019, 571, 489–499. [CrossRef]
15. Parry, A.; Rulands, S.; Reik, W. Active turnover of DNA methylation during cell fate decisions. *Nat. Rev. Genet.* 2021, 22, 59–66. [CrossRef]
16. Fleming, A.M.; Ding, Y.; Burrows, C.J. Oxidative DNA damage is epigenetic by regulating gene transcription via base excision repair. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2017, 114, 2604–2609. [CrossRef]
17. Fleming, A.M.; Zhu, J.; Ding, Y.; Burrows, C.J. 8-Oxo-7,8-dihydroguanine in the Context of a Gene Promoter G-Quadruplex Is an On-Off Switch for Transcription. *ACS Chem. Biol.* 2017, 12, 2417–2426. [CrossRef] [PubMed]

18. Zhu, J.; Fleming, A.M.; Burrows, C.J. The RAD17 Promoter Sequence Contains a Potential Tail-Dependent G-Quadruplex That Downregulates Gene Expression upon Oxidative Modification. *ACS Chem. Biol.* 2018, 13, 2577–2584. [CrossRef] [PubMed]
19. Pao, P.C.; Patnaik, D.; Watson, L.A.; Gao, F.; Pan, L.; Wang, J.; Adaikkan, C.; Penney, J.; Cam, H.P.; Huang, W.C.; et al. HDAC1 modulates OGG1-initiated oxidative DNA damage repair in the aging brain and Alzheimer's disease. *Nat. Commun.* 2020, 11, 2484. [CrossRef]
20. Li, C.; Xue, Y.; Ba, X.; Wang, R. The Role of 8-oxoG Repair Systems in Tumorigenesis and Cancer Therapy. *Cells* 2022, 11, 3798. <https://doi.org/10.3390/cells11233798>
21. Cheung, E.C.; Vousden, K.H. The role of ROS in tumour development and progression. *Nat. Rev. Cancer* 2022, 22, 280–297. [CrossRef] [PubMed]

Anexos

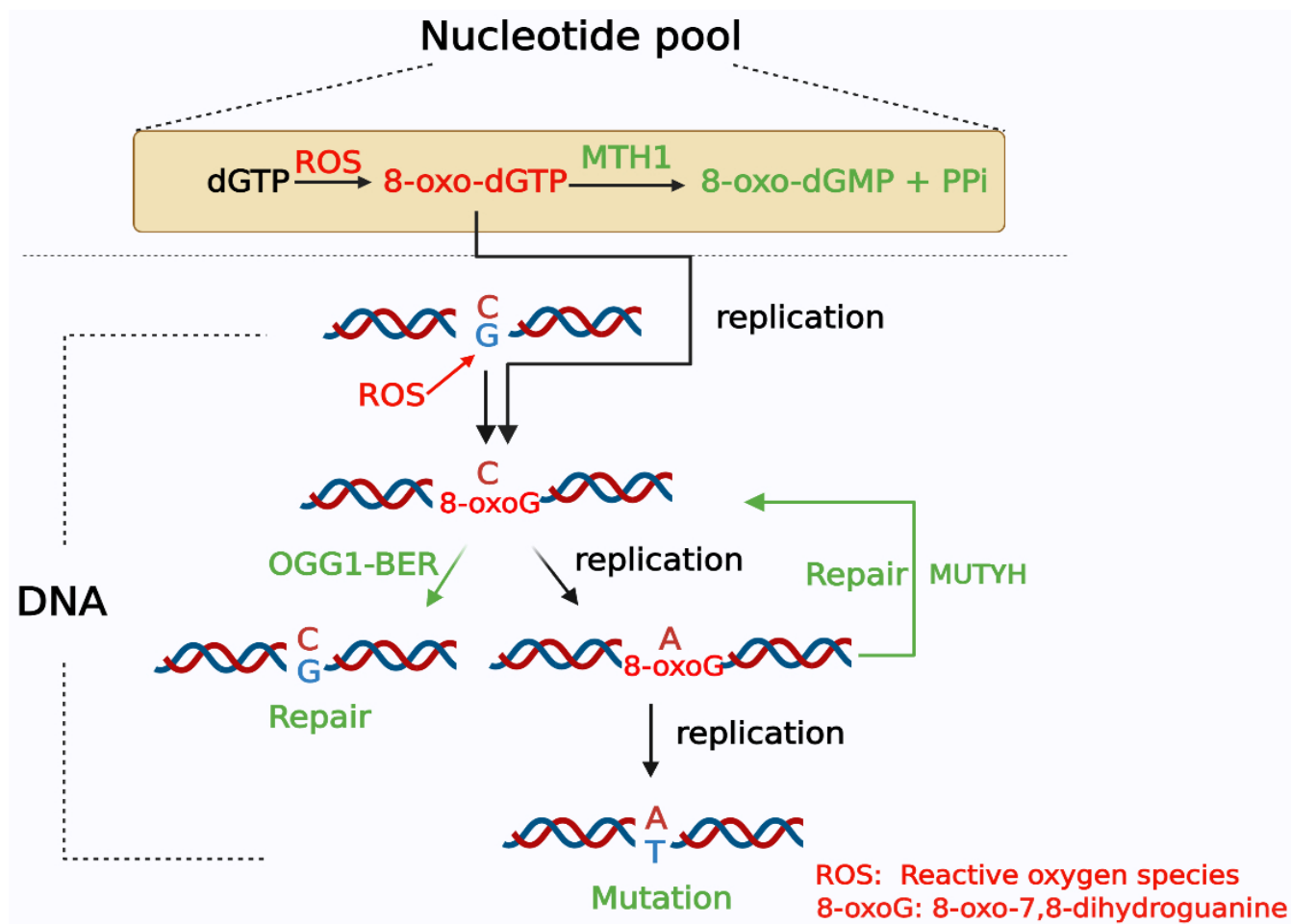


Figura 1. Mecanismos de reparación del ADN y estrés oxidativo.