

Bases moleculares de envejecimiento

Eduardo
González Jiménez



© Gerardo Suter, *Desde la tierra del día y la noche 8*, 1986.

El ciclo de la vida después del nacimiento es el desarrollo del individuo hasta ciertos niveles, posteriormente viene una declinación que culmina con la muerte. A este periodo de declinación se la llama envejecimiento. Pero, ¿qué es realmente el envejecimiento? ¿Es una fase programada de la diferenciación celular, es decir un desarrollo normal que culminará en la muerte del organismo?, o bien, ¿la manifestación progresiva del deterioro de los procesos fisiológicos fundamentales es debida a factores aún poco definidos pero que pueden evitarse? En lo que sí coinciden las dos teorías es en el hecho de que el envejecimiento tiene que ver con procesos que suceden en el nivel celular. Para entender este proceso es indispensable la comprensión de las bases moleculares que llevan al deceso de las células.

Cada célula cuenta con un sistema complejo para reproducirse y construir las moléculas que le permitirán desarrollarse. La información y la maquinaria para lograr lo anterior se encuentra en los ácidos nucleicos y en las proteínas.

En las células, los ácidos nucleicos comparten un ambiente que contiene numerosas moléculas inorgánicas, agua y una gran variedad de especies moleculares, potencialmente reactivas, que pueden existir como moléculas excitadas, iones o radicales libres. Estas especies son posteriormente convertidas en productos químicamente estables por reacciones subsecuentes.

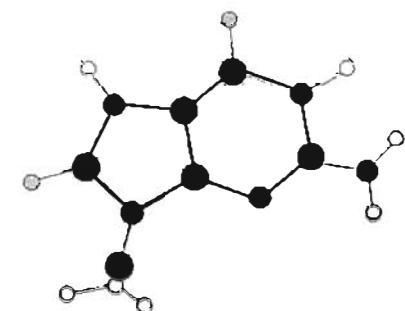
Hace cuarenta y tres años, Harmon sugirió que los radicales libres podrían participar en los procesos del envejecimiento (Harmon, 1956). La teoría de los radicales libres es la respuesta a las interrogantes enunciadas al principio sobre el envejecimiento. Sobre todo después de que las evidencias experimentales se multiplican para confirmar que los radicales libres dañan la función celular y que están relacionados con las enfermedades asociadas con la edad como aterosclerosis, artritis, distrofia muscular, cataratas, disfunción pulmonar, varios desórdenes neurológicos, declinación del sistema inmune e incluso el cáncer (Stadtman, 1992; Shigenaga y cols., 1994).

En el presente, la teoría de los radicales libres ha sido ampliamente aceptada y forma parte de las bases de numerosas hipótesis para explicar cómo estas substancias participan en la mutagénesis, cancerogénesis y en el envejecimiento.

LOS RADICALES LIBRES, UN ENEMIGO INTERNO

Los radicales libres son átomos o moléculas con uno o más electrones sin neutralizar, por lo tanto tienen una tendencia a ceder o aceptar electrones lo cual los hace extremadamente reactivos. Los radicales libres dirigen su poder mutagénico a los ácidos nucleicos, proteínas y lípidos causando lesiones que, en la mayoría de los casos, son reparadas mediante una compleja maquinaria de la cual aún sabemos poco. Nuestro interés en este momento está puesto en uno de los ácidos nucleicos: el ácido desoxirribonucleico (ADN). En esta molécula se encuentra codificada la información genética y las instrucciones para guiar el desarrollo del organismo. El ADN es una molécula relativamente pequeña pero la información guardada sería suficiente para llenar una enciclopedia de mil volúmenes. El alfabeto en el cual se codifica la información de la herencia está escrito con cuatro letras que forman las cuatro bases normales del ADN, dos purinas: adenina A, guanina G y dos pirimidinas: citosina C, timina T. Las bases forman sólo dos pares complementarios que se encuentran en la doble hélice del ADN: A con T y G con C, los pares de Watson y Crick. Un par alterno corresponde a un error o lesión. Si esta lesión se mantiene, en la próxima replicación da por resultado una mutación puntual que puede alterar el desarrollo del organismo, incluso ocasionarle la muerte.

Los radicales libres atacan al ADN y producen una variedad de lesiones que ocasionan la modificación de las bases,



● Carbón ● Nitrógeno ○ Oxígeno + Hidrógeno

FIGURA 1 La base modificada 8-oxoguanina. La diferencia con la guanina normal es el átomo de oxígeno en la posición 8 del anillo imidazol de la guanina.

el rompimiento o el cruzamiento de las cadenas. El ataque por especies de oxígeno reactivo es la mayor fuente de lesiones espontáneas del ADN.

Existen varias fuentes generadoras de radicales de oxígeno extra e intracelulares. Una corresponde a la exposición de ADN celular a oxidantes ambientales como agentes químicos cancerígenos y radiación ultravioleta e ionizante. Pero la mayor fuente intracelular de radicales de oxígeno está asociada con la reducción de oxígeno y la formación de agua durante la respiración mitocondrial (la respiración celular). Las especies de oxígeno reactivo son producidas continuamente en una alta proporción como resultado del metabolismo aeróbico. Es decir, nuestro propio organismo crea las condiciones que contribuirán al declinamiento de las funciones vitales. En nosotros reside un enemigo interno que conspira para nuestra muerte y que se hace más patente con la edad.

Dentro de los oxidantes se encuentran: superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno aislado O_2 y radicales hidroxilo (OH). Los radicales hidroxilo son originados principalmente durante la reducción química y enzimática de moléculas de oxígeno en la célula.

La principal lesión causada por los oxidantes es la transformación de las bases normales de Watson-Crick en bases modificadas. Hoy en día han sido identificados más de veinte productos resultantes de las lesiones causadas por radicales de oxígeno, entre ellos podemos mencionar: 8-oxadenina, 8-oxoguanina (OG), 4,6-diamino-5-formamidopirimidina (Fapy Ade), 2,6-diamino-4-hidroxi-5-formamidopirimidina (Fapy Gua), 5-hidroxicitosina, 5-hidroxiuracil y Timina glicol.

La más abundante e importante desde el punto de vista biológico es la lesión oxidativa del producto OG. Éste fue descubierto, en 1984, como factor mutagénico (Kasai y Nishimura, 1984). Hasta hoy no son pocos los artículos referentes a esta

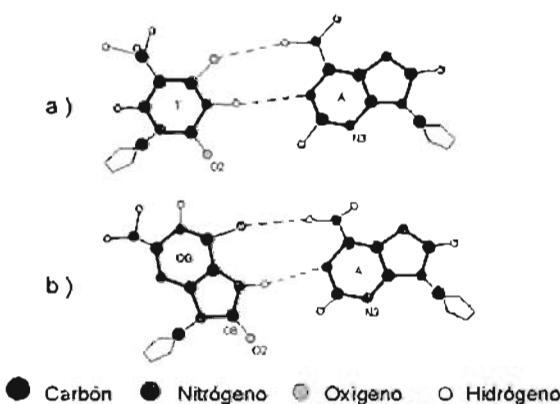


FIGURA 2 El par de Watson-Crick, Timina-Adenina (arriba) y el par de bases 8-oxoguanina(*syn*)-Adenina (abajo). Las líneas punteadas indican los enlaces de hidrógeno, los pentágonos son la desoxirribosa. Observe la similitud de los átomos de oxígeno con posiciones 2 en timina y 8 en OG. N3 es el átomo de nitrógeno en la posición 3. Estos átomos son capaces de interaccionar con las proteínas de reconocimiento.

base modificada y sus implicaciones biológicas, pero aún falta mucho para entender completamente los mecanismos átomo-moleculares mediante los cuales actúa la base OG y, en general, los radicales libres, para producir mutaciones puntuales. Investigaciones recientes han determinado que ocurre un incremento del nivel de OG en el ADN de hígado de ratón al ser expuesto a radiación γ , asimismo en células HeLa, debido a radiación X, y en *Salmonella typhimurium* al ser tratada con H_2O_2 , etcétera.

Un cálculo de la producción *in vivo* de las bases modificadas por los radicales libres de oxígeno ha dado como resultado un número de 10^4 modificaciones de las bases por célula por día. Es factible que una fracción finita de tal cantidad masiva de daños pueda escapar de ser reparada por los más complicados mecanismos de reparación de la célula y que la acumulación de daños no reparados contribuya a la pérdida de las funciones fisiológicas relacionada con la edad.

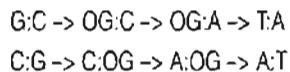
LA MODIFICACIÓN OG Y LAS MUTACIONES

En la doble hélice del ADN, la guanina unida al azúcar desoxirribosa (nucleósidos) es atacada por radicales hidroxilo o por los oxígenos libres en la posición 8 de la guanina. Uno de cada 10^5 residuos de guanina en el ADN celular humano es oxidado en esta posición. El ataque de los radicales de oxígeno en la guanina crea la 8-oxoguanina (véase Figura 1).

El potencial mutagénico de la 8-oxoguanina se refleja en las propiedades de esta base, al provocar una lectura errada del código genético. Al ocurrir una lesión y formarse la OG dentro del ADN, esta base modificada permanece en el par de Watson y Crick con una citosina opuesta a ella, OG:C.

La introducción del átomo de oxígeno en la posición 8 (O8) de la OG, altera las propiedades electrónicas de la OG dotándola de la capacidad para aparearse con otras bases además de la citosina. Por un lado, la presencia de un átomo O8 hace que los nucleósidos de la oxoguanosina adopten una conformación en solución preferentemente *syn*¹ (diferente a la conformación *anti* que se observa en la doble hélice), debido a que la presencia del oxígeno en la posición 8 produce una desfavorable interacción estérica y efectostática entre O8 y el anillo de la desoxirribosa, incrementando, entonces, la posibilidad del apareamiento purina-purina, como son los pares OG(*syn*):A y OG(*syn*):G.

La inclusión de estos pares incorrectos en la cadena de ADN durante la biosíntesis de los ácidos nucleicos permite que los pares de nucleótidos que contienen OG se transformen de la siguiente manera:



En este esquema vemos una transversión de G \rightarrow T y la transversión A \rightarrow C. Las mutaciones de este tipo han sido detectadas en investigaciones *in vivo* (Cheng y cols., 1992).

Pero existe una gran variedad de enzimas que actúan para reparar los daños del ADN, protegiendo a las células del potencial mutagénico y de los efectos letales del daño oxidativo. La parte fundamental de la fidelidad de la síntesis de los ácidos nucleicos es el reconocimiento de la complementariedad de los pares por las enzimas reparadoras. La existencia de estas enzimas reparadoras de los daños de OG fue postulada en 1986 en experimentos con ratones irradiados con rayos gamma, en los que se observó que después de un tiempo desaparecía la OG. Una de estas enzimas reparadoras es la 8-oxoguanina DNA glicosilasa (OG glicosilasa). La OG glicosilasa remueve específicamente del dúplex de ADN el nucleósido OG opuesto a las bases C, G, o T; el opuesto a A es relativamente más resistente de remover. Pero para remover la lesión, ésta debe ser identificada previamente. ¿Qué mecanismo se utiliza para tal reconocimiento? Una respuesta a esta pregunta tiene que ver con la interacción entre los átomos N3 (átomo de nitrógeno en la posición 3) de las bases purinas y O2 (átomo de oxígeno en la posición 2) de las pirimidinas (ver Figura 2a) con las enzimas de reconocimiento. Por esta razón estos



G Gerardo Suter, Izquierdo, de la serie El archivo fotográfico del profesor Rieser, 1980

átomos juegan el papel de una matriz adicional tomando parte en la selección de los nucleótidos (González y cols., 1999). En el par OG:A, el arreglo de los átomos O8 de OG y N3 de adenina tendrá una disposición similar a la de los átomos O2 de la pirimidina y N3 de la purina en el par de Watson y Crick (véase Figura 2b). Este hecho permite una interacción efectiva con sitios de reconocimiento de la polimerasa, por lo tanto puede ser engañada y no reparar el daño, permitiendo una mutación en la segunda replicación.

El lapso de vida de un organismo parece estar inversamente correlacionado con su tasa metabólica y por consiguiente con la tasa del daño oxidativo. Restricciones calóricas pueden ser usadas para prolongar el lapso de vida en ratas y ratones y decrecer la frecuencia de aparición de cáncer, el cual se incrementa dramáticamente con la edad. Todas estas observaciones son consistentes con la proposición de una gradual acumulación de las alteraciones genéticas perjudiciales debidas al daño oxidante. La acumulación de daños incluye el aumento de una pobre reparación de las lesiones del ADN, efecto que se acentúa notoriamente con la edad, hasta llegar a la dramática confirmación del cese de las funciones vitales. ¿Es el envejecimiento un proceso evitable? ¿Detener el declinamiento fisiológico equivale a evitar la muerte? Hoy empezamos a entender los mecanismos átomo-moleculares que generan las mutaciones puntuales. Comprender los procesos relacionados con el daño oxidativo es de importancia

fundamental para evitar el envejecimiento, si no para evitar la muerte, si por lo menos para prolongar la vida del individuo.

B I B L I O G R A F I A

- Cheng K C, Cahil D S, Kasai H, Nishimura S, Loeb L A. 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G>A/C substitutions. *J Biol Chem.* 267, pp. 166-172, 1992.
- Harmon D. J. *Gerontol.* 11, pp. 298-304, 1956.
- Kasai H y Nishimura S. Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by ascorbic acid and other reducing agents. *Nucleic Acids Res.* 12, pp. 2137-2145, 1984.
- Shigenaga M K, Hagen T M, Ames B N. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci USA.* 91, pp. 10771-10778, 1994.
- Stadtman E R. Protein oxidation and aging. *Science* 257, pp. 1220-1224, 1992.
- González Jiménez E, Castro-Vádez I, López-Apresa E, Filippov S V, Tepiukhin A V, Potey V I. Computer study of the role of hydration in the accuracy of nucleic acid biosynthesis. *J Mol Struct (Theochim)* 493, pp. 301-308, 1999.

N O T A

¹ La conformación normal de las bases en la doble hélice respecto a la desoxiribosa (azúcar) es la conformación anti; la conformación syn se forma cuando la base rota aproximadamente 180° respecto al azúcar.

Eduardo González Jiménez es Investigador de la Facultad de Ciencias Físico Matemáticas de la Universidad Autónoma de Puebla.