

2-Desarrollo histórico del problema.

a) Descubrimientos biológicos. Teorías celular y genética.

La teoría celular actual y, todos nuestros conocimientos biológicos se deben, esencialmente, al descubrimiento del microscópio, ya que es por medio de este instrumento que Robert Hooke descubre, en 1665, la célula. A pesar de lo temprano de la innovación, hubo que esperar hasta el siglo XIX para que, con instrumentos más desarrollados, se pudiese ampliar el campo del conocimiento. De esta manera, en 1831, R. Brown, descubre el núcleo celular, mientras que H. V. Mohl describe, por primera vez, en 1835, como se reproduce una célula mediante el mecanismo de división. Pocos años después, en 1838, M. J. Schleiden enuncia su teoría celular para las plantas y, por último, en 1839, T. Schwam extiende esta teoría a todos los seres vivos.

De ahí en más, los descubrimientos y teorías se suceden. Apenas pasada la mitad del siglo (1859), Charles Darwin publica su libro "El origen de las especies", el cual produjo las mayores controversias de que se tienen noticias, en el mundo de la ciencia. En contraste con este hecho, el trabajo de un desconocido monje alemán, Gregor Mendel, publicado en 1865, permanece totalmente olvidado, hasta comienzos de este siglo, momento en el cual se empieza a reconocer su importancia. Este trabajo, en el cual se relatan experiencias realizadas con distintas variedades de guisantes, describiendo las propiedades hereditarias observadas, sienta las bases para el desarrollo ulterior de toda la teoría acerca de la herencia.

A medida que las técnicas ópticas mejoraban, la célula y su núcleo fueron observados con más detalle, lo que llevó a que E. van Beneden, C. Rabl, T. Boveri y E. Strasburgen, describieran, entre 1883 y 1888 la importancia y especificidad de los "cromosomas", recientemente descubiertos, en los dos tipos conocidos (mitosis y meiosis) de reproducción celular.

En 1900, independientemente uno de otro y, curiosamente, en el mismo ejemplar de "Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft", H. de Vries, C. Correns y E. Tschermak, redescubren el trabajo de Mendel y combinando la genética con la citología, suponen que los cromosomas son los portadores de la información hereditaria, teoría que está de acuerdo con lo descubierto por Mendel.

En 1902, de Vries, descubre las mutaciones, (pequeños cambios producidos por e-

zar, en el material genético) y encuentra que un cierto porcentaje de estas, por otra parte mínimo, es de origen hereditario. Este hecho está en violento contraste con lo supuesto por Darwin, ya que este, introduciendo la hipótesis de las mutaciones, supone que son las responsables de la evolución de las especies, negando, por lo tanto, su carácter hereditario. Si bien las mutaciones, aún las hereditarias, proveen material para que funcione el mecanismo de selección natural, es evidente entonces que no pueden ser el factor preponderante de este último y, aún hoy, su esencia no es totalmente comprendida. El problema fundamental se debe a que las mutaciones, aún cuando se produzcan por cambios discontinuos no dejan de presentarse, mientras que la materia hereditaria ha demostrado poseer, durante miles de años, una estabilidad realmente asombrosa.

Luego de los descubrimientos ya enunciados, la genética tuvo un desarrollo realmente meteórico, convirtiéndose en una parte sumamente importante de la biología. La parte experimental se ha realizado siempre en sujetos vivos muy pequeños, insectos, hongos, virus, etc., debido fundamentalmente a lo corto de sus ciclos vitales (horas en algunos casos), lo que permite contar con un número muy grande de generaciones en donde observar los cambios hereditarios inducidos. Todo esto se basa en la suposición que los mecanismos hereditarios son comunes a todos los seres vivos. En el caso de los seres humanos, además de la extensión de su ciclo vital, comparable a la del investigador, los prejuicios morales y religiosos impiden su uso como sujetos de investigación, lo que vá en detrimento del conocimiento en enfermedades hereditarias específicamente humanas, tales como el daltonismo, hemofilia, síndrome de Down (mogliismo), etc., de las cuales, si bien se conoce la causa, no ha sido posible encontrar un remedio.

La total descripción de la célula y su núcleo, y el conocimiento de las funciones específicas de cada elemento de los mismos, ha permitido delimitar totalmente el campo de estudio de los fenómenos hereditarios. Esto último ha llevado a que los genetistas presenten una tendencia cada vez más marcada a trabajar a niveles subcelulares, es decir moleculares y submoleculares, con el fin de explicar los fenómenos observados.

b) Descubrimientos químicos. Química de los ácidos nucleicos; tautómeros.

Durante siglos, la palabra químico, es indistinguible de la palabra alquimista, ya que estos eran lo más cercano a nuestros químicos modernos. No es hasta Dalton (1766-1844) que la química no adquiere las características científicas que posee en la actualidad. Aún así, el estudio se limitaba al de las sustancias inorgánicas, ya que se suponía que las orgánicas eran prioridad de los seres vivos, los cuales poseían un "aura vital" que les permitía fabricar, por así decir, sustancias de este tipo. Recién en 1828, cuando F. Wöhler realiza su famosa síntesis de la urea (sustancia orgánica encontrada en la orina), queda demostrado que no es necesaria el "aura vital" para producir compuestos orgánicos, y ambas químicas, inorgánica y orgánica se transforman en una sola, aun cuando por comodidad sigamos usando, para su estudio, la vieja división. Al producirse esta unión quedó en claro que las leyes de la química ordinaria eran válidas para el estudio de la materia viva.

Hacia mediados del siglo XIX los citólogos habían descubierto ya todos los componentes de una célula ordinaria, lo que permitió a los químicos analizar las sustancias del citoplasma y del núcleo. Es de esta manera que en 1868 F. Miescher descubre ciertos compuestos, de fundamental importancia en las teorías biológicas futuras, los cuales son ahora llamados "ácidos nucleicos". El conocimiento de estas sustancias se vio muy enriquecido con los trabajos de E. Hansemann, T. Caspersson y otros.

A través de trabajos posteriores se sabe que estos ácidos no están confinados al núcleo, tal como se creía y lo dice su nombre, sino que también pueden encontrarse en el citoplasma. Hoy en día distinguimos dos ácidos nucleicos: el deoxirribonucleico (D.N.A) y el ribonucleico (R.N.A). Estas moléculas, sobre cuya descripción e importancia volveremos más tarde, pertenecen al grupo de las llamadas macromoléculas, las cuales pueden estar formadas por miles (muchos miles) de átomos. Estas macromoléculas fueron descubiertas en el último cuarto del siglo pasado. Dentro de este grupo encontramos a las proteínas, las cuales fueron consideradas, durante muchos años, las más importantes, debido a que se tenía la fuerte sospecha de que las enzimas eran proteínas. La importancia de las enzimas, lo cual justifica el interés, estriba en que se sabe que son los catalizadores metabólicos fundamentales en los seres vivos. (se denomina metabolismo a la serie de procesos energéticos que

permiten el desarrollo celular). La controversia respecto a si las enzimas eran o no proteínas quedó terminada en 1926, cuando Sumner probó la naturaleza enzimática de una proteína cristalina.

Otras moléculas de las cuales se sospechaba fuesen proteínas eran los genes debido más que nada a su alta especificidad, y por saberse, además, que las proteínas podían encontrarse en los cromosomas. Todos estos descubrimientos fueron posibles debido a las mejoras introducidas en los métodos experimentales y de observación, pero ante todo por el aumento en el número de químicos que orientaban sus estudios hacia la biología (bioquímicos).

A pesar de todo, pasado el primer cuarto de este siglo, se suponía que los ácidos nucleicos, ya encontrados en los cromosomas, eran muy pequeños como para transportar suficiente información genética.

La complejidad de los problemas que se les presentaban a los bioquímicos queda en evidencia cuando se considera el llamado "metabolismo intermediario". La mayoría de los alimentos de que puede disponer una célula no cuenta, ni mucho menos, con todas las sustancias que necesita la misma para su desarrollo y crecimiento. En la mayoría de los casos, la célula debe, a partir de la fuente alimenticia, sintetizar las sustancias necesarias. Para ello, sintetiza en primer lugar, una serie de sustancias intermediarias, las enzimas o "metabolitos", las cuales no cumplen ninguna función celular, sino que actúan como intermediarios o catalizadores para la formación de una sustancia particular, digamos por ej. un cierto aminoácido, el cual formará parte, a su vez, de una determinada proteína. Un ejemplo de lo antes dicho se presenta en las células de la levadura de cerveza, las cuales sintetizan todos los compuestos necesarios para su desarrollo a partir del azúcar simple o glucosa.

El comprender como se transmite de una a otra generación (o de padres a hijos) la información necesaria para que la célula realice todos esos procesos, fue y es la mira final de los bioquímicos.

Volviendo a los ácidos nucleicos, una de sus características fundamentales es el de estar constituidos por bases aromáticas nitrogenadas, azúcares pentoses y grupos fosfatos, en ciclos que se repiten un número enorme de veces. Las bases involucradas en la estructura, son de dos tipos: purinas y pirimidinas (fig. 5). Las molé-

culas de D.N.A. poseen cuatro bases principales, adenina (A) y guanina (G), del tipo purina, y timina (T) y citosina (C), del tipo pirimidina. El R.N.A. contiene tres de estas bases, adenina, guanina y citosina, mientras que la timina es reemplazada por el uracilo (U). La diferencia de tamaño entre los dos tipos de base juega un papel muy importante, como ya se verá en el modelo tridimensional del D.N.A. Los detalles de las estructuras químicas se muestran en la figura 6.

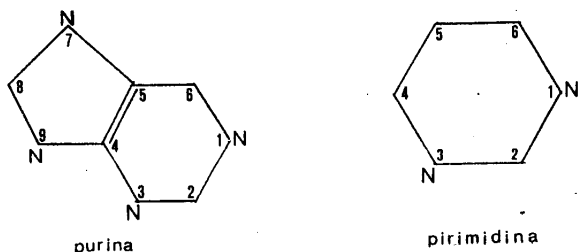
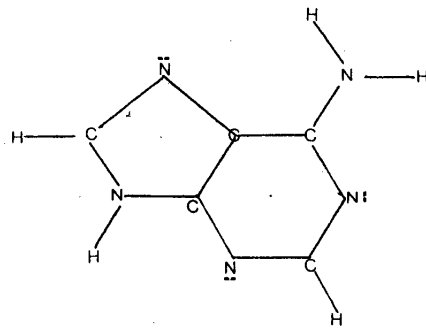


fig.5

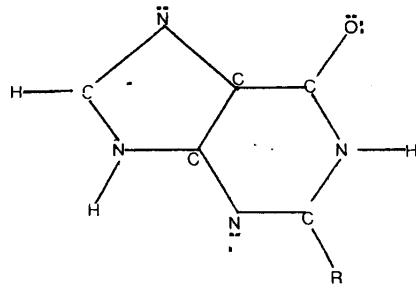
Bases nitrogenadas simples

Una propiedad química sumamente importante de estas bases, es la de formar un cierto tipo de isómeros simples, denominados "tautómeros". Los tautómeros se producen por la migración de una partícula cargada, de un átomo de la molécula a otro. En el caso de las bases nucleósidas, encontramos prototropismo, ya que las partículas en cuestión son protones, es decir átomos de hidrógeno, los cuales se desplazan de un par electrónico a otro. Esta forma de isomerismo se produce debido a la existencia de ligaduras hidrógeno. Una ligadura hidrógeno es una ligadura débil, la cual aparece por la alta electronegatividad del átomo ligado al hidrógeno, la cual no es totalmente compensada, permitiendo entonces, por ejemplo, la formación de cadenas de átomos, tal como se presentan en el agua (fig.7). Los tautómeros se presentan en dos formas básicas, ceto-enol y amino-imino, no permaneciendo nunca en una de las formas puras (fig.8(a) y (b)), sino coexistiendo en un equilibrio mixto. El porcentaje en que cada forma se presenta es fundamental para el equilibrio de la materia viva, motivo por el cual las constantes de equilibrio son sumamente importantes y su estudio forma parte, también, del presente trabajo.

A medida que continuaba el estudio de los nucleósidos, se encontró que los a-

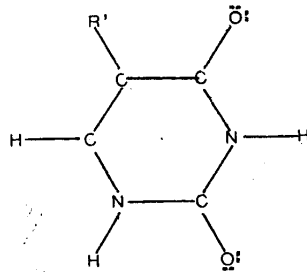


Adenina (A)



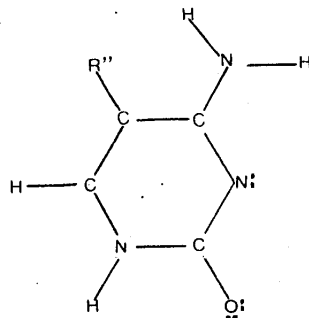
Bases guanina

- R {
- NH₂: guanina (G)
 - H : hipoxantina



Bases timina

- R' {
- CH₃: timina (T)
 - H : uracilo (U)
 - Br: bromouracilo (base análoga)



Bases citosina

- R'' {
- H : citosina (C)
 - CH₃: metilcitosina
 - Br : bromcitosina (base análoga)

Fig.6-Estructura química de las bases comunes y de algunas de las bases análogas. Agregado a la estructura σ , indicada por el esqueleto coplanar, hay también un electrón π envolvente. El símbolo (:) indica pares electrónicos solitarios.

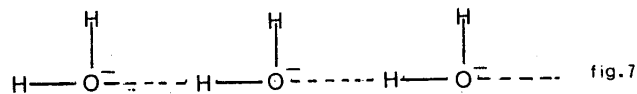


fig.7

Encadenamiento de moléculas de agua por medio de ligaduras hidrógeno.

zúcares que los acompañaban eran ribosas del tipo mostrado en la figura 9. Un hecho notable determinado en forma experimental, es que los grupos α -ribosa no aparecen en la naturaleza, encontrándose solamente las formas β de cada grupo.

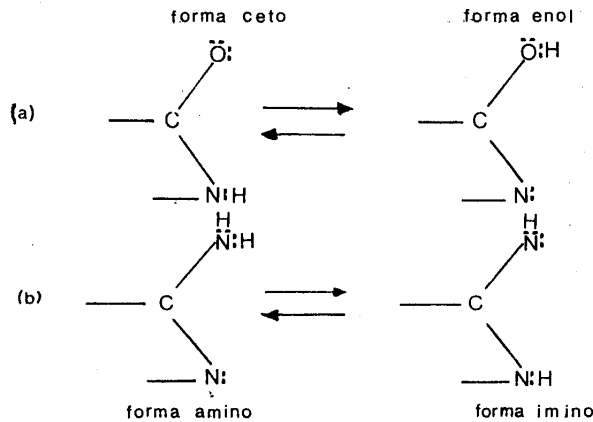


fig.8

Posibles tautomerismos: a-ceto-enol; b-amino-imino

Diremos por último, respecto a los componentes de los ácidos nucleicos, que los ésteres fosfatados que los conforman, son del tipo monofosfatos (MP), aún cuando pueda haber bifosfatos (DP) y trifosfatos (TP). Los compuestos trifosfatados, en particu-

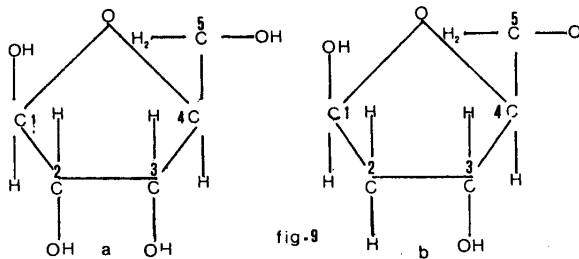


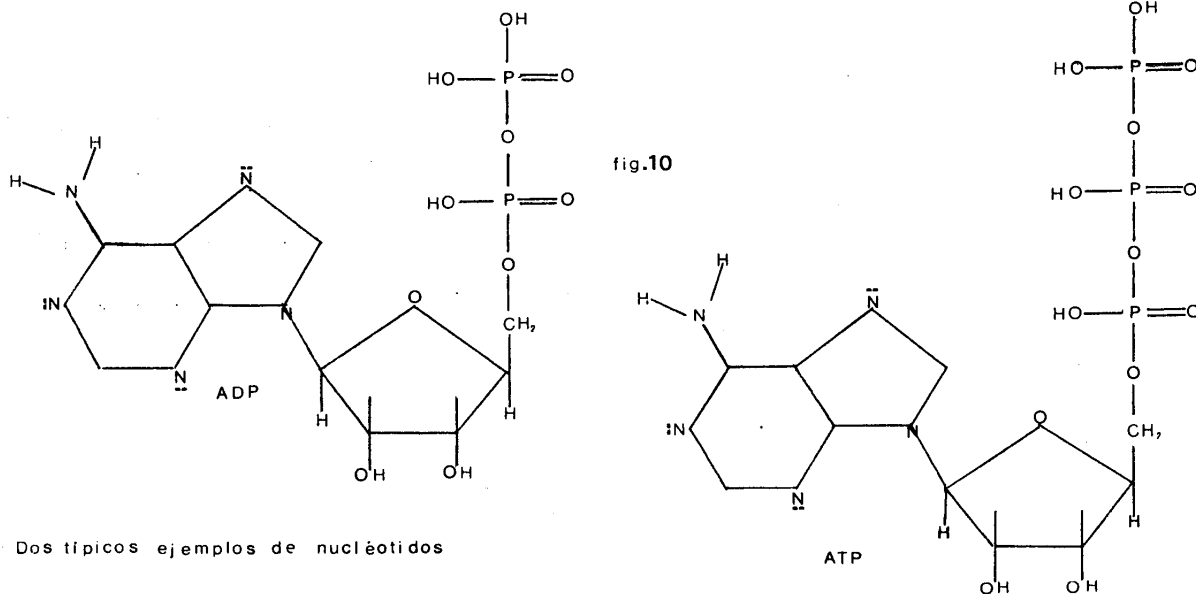
fig.9

Los grupos de azúcar pentosa que aparecen en los ácidos nucleicos: a- β -ribosa (DNA); b- β -2-deoxiribosa (RNA)

lar el ATP o adenosina trifosfato es fundamental en el metabolismo celular, ya que es la fuente básica de energía con que cuenta la célula, debido a que posee lo que se denomina una ligadura de alta energía. Cuando un ácido nucleico se encuentra en equilibrio, queda conformado como un polinucleótido, a partir del encadenamiento de un monofosfato de un mononucleótido al grupo O-H del azúcar siguiente (figs.10,11 y 12). Cada grupo de la cadena está formado por una base distinta y dado que en la naturaleza se presentan solo cuatro de ellas, en un principio se supuso que estas estaban distribuidas en partes iguales en toda la cadena. Esta teoría se mantuvo vigente hasta fines de la década del cuarenta, en este siglo, debiendo luego abandonarse, debido a los hechos experimentales encontrados en el campo de la genética.

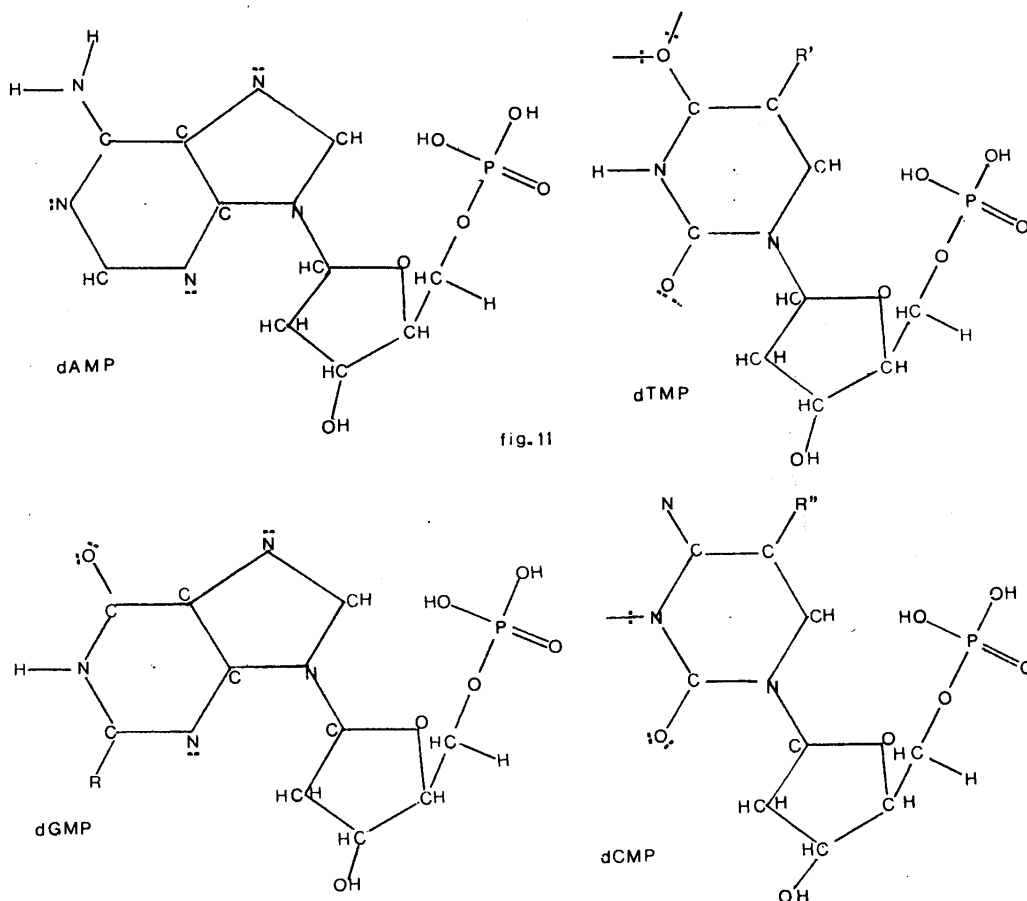
Volviendo a un punto anterior de la descripción de los ácidos nucleicos, de-

bemos llamar la atención nuevamente, acerca de la existencia de los tautómeros, ya que cuando, por azar, en lugar de la base establecida por la naturaleza, se presenta un tau-



Dos típicos ejemplos de nucleótidos

tómero de la misma, la cadena polinucleotídica queda totalmente alterada, pudiendo pro-



Esquema de los nucleótidos que forman la estructura básica del DNA; la explicación sobre los radicales R, R', y R'' está en la fig.8. Nótese que todas las cadenas de azúcar son del tipo β.

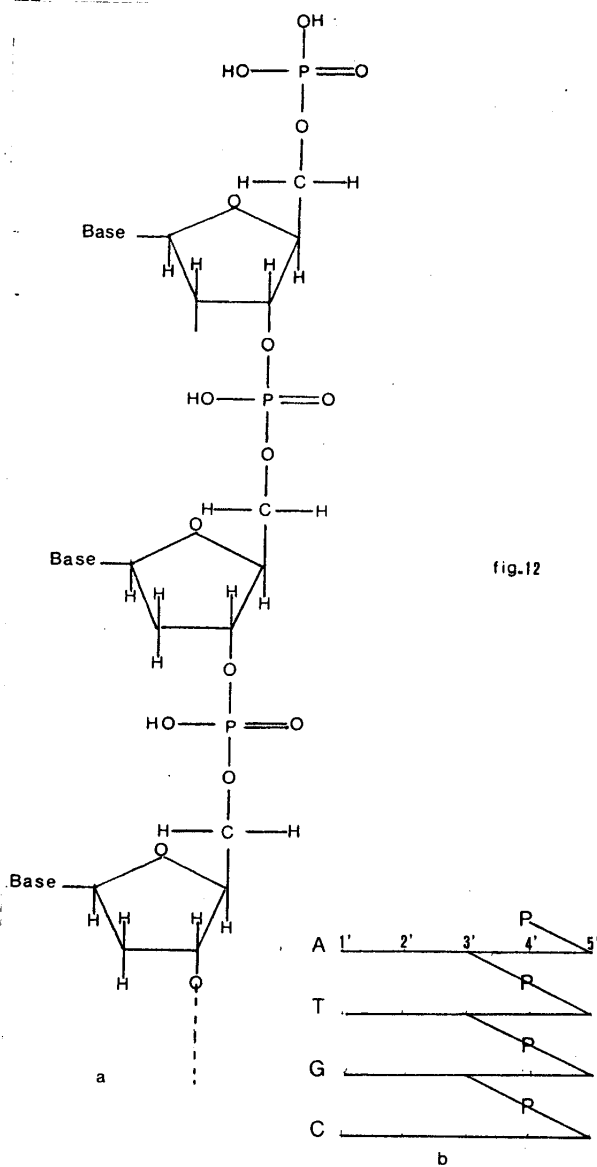


fig.12

a-Estructura de cadena de un polideoxirribonucleótido. Los fosfatos encadenantes alternan entre la posición 5' en un azúcar y 3' en el siguiente.

b-Notación sintética para indicar la estructura de cadena de un polinucleótido.

ducirse mutaciones.

c) Teorías biofísicas. Fenómeno de las mutaciones, cáncer y envejecimiento explicados como saltos cuánticos.

Durante la década del treinta, ve la luz una teoría basada en la analogía entre la genética y la mecánica cuántica. En 1935 M. Delbrück y al. publican un trabajo, según el cual la inmensa estabilidad de los cromosomas a lo largo de miles de años podría explicarse si estos últimos se consideraban como enormes moléculas en su estado fundamental. Las mutaciones se explicarían entonces como saltos cuánticos desde este estado fundamental a un estado excitado o isomérico.

De ser cierta esta teoría, la probabilidad de las mutaciones tendría que ser directamente proporcional a $\exp.(-\Delta E/kT)$, en donde ΔE representa la diferencia de energía entre un estado y otro y kT la energía calórica utilizada, ya que los isómeros cuánticos se rigen por esa expresión. La experiencia genética, sin embargo, no presentaba casi ningún acuerdo con la teoría.

Más adelante, Schrödinger (1943) estudia exhaustivamente el modelo y propone una modificación fundamental en el mismo. En sus consideraciones, Delbrück suponía que los genes podían considerarse como cristales periódicos, mientras que Schrödinger cree que deberían tratarse como cristales aperiódicos, ya que los primeros presentan una estructura simple y monótona mientras que la estructura básica de los genes es sumamente compleja, no pudiendo reducirse a un modelo tan elemental, en donde solo encontramos una infinita repetición, sin relieves, de factores básicos.

Siguiendo los lineamientos propuestos por Schrödinger, los biofísicos, es decir, los físicos que comenzaron a estudiar los problemas de la vida, encontraron que, efectivamente, podía suponerse que los errores en la transmisión de la información, o como se los denominaba, errores en el código genético, podían deberse a los saltos cuánticos protónicos que llevaban a las bases, de una forma tautomérica a otra. Se encontró, además, que a temperatura normal ($\approx 310^\circ K$), la probabilidad cuántica para la formación de tautómeros era prácticamente nula, lo cual explicaría la enorme estabilidad del código a través de los años.

En base a esta teoría, si la alteración en el código se produce en el estado de gestación, produce un mutante; si se produce en un ser ya desarrollado, puede producir un tumor y por último, aquellas alteraciones, no lo suficientemente graves como para producir tumores, pero sí tales que suman su efecto, llevan a un daño genético permanente, lo cual llevaría a su vez al individuo al envejecimiento y muerte. Este proceso del envejecimiento, es sumamente importante, ya que es un hecho biológico reconocido que se produce solamente en los organismos altamente desarrollados, estando los más simples, tales como los monocelulares, libres de él. La explicación del envejecimiento podría encontrarse en el efecto acumulativo de los errores genéticos, ya que un individuo complejo tiene muchas más probabilidades de presentar errores genéticos múltiples y simultáneos.

Recapitulando entonces, parte del trabajo de los físicos consiste en determinar bajo que condiciones varían las constantes de equilibrio de los tautómeros y en que forma lo hacen, calculando también por ejemplo, los potenciales de polarización, etc., en los distintos casos. Nuestro trabajo, precisamente, desarrolla esta línea de acción, para tres bases particulares, la guanina, la citosina y la hipoxantina.