

ficativo en el efecto del etanol sobre la actividad locomotora.

Los datos recogidos podrían poner de manifiesto estos efectos, ya que la administración concurrente de DDTc y 4-MP anula el efecto inhibitorio del DDTc sobre la actividad locomotora inducida por etanol. El incremento resultante en la acción del etanol abona la idea de que la aldehído deshidrogenasa cerebral desempeña,

sin duda, un importante papel en la mediación de la actividad locomotora inducida por etanol. La enzima regularía los niveles de acetaldehído cerebral y promovería, a su vez, la viabilidad de un metabolismo cerebral del alcohol.

M^a DOLORES ESCARABAJAL ARRIETA
Area de Psicobiología,
Universidad de Jaén

La naturaleza del ADN

Determina una correcta segregación de los cromosomas en la mitosis

Mientras que los acontecimientos que caracterizan a la mitosis en sus aspectos morfológicos se conocen desde hace mucho tiempo, dada la espectacularidad del comportamiento cromosómico y su fácil observación, no podemos decir lo mismo de los mecanismos moleculares que, en una actuación secuencial de una serie de genes de control que aún son objeto de investigación, van determinando de manera exquisita el progreso a través del ciclo celular en general y de la mitosis en particular. Una de las cuestiones sin duda más oscuras es

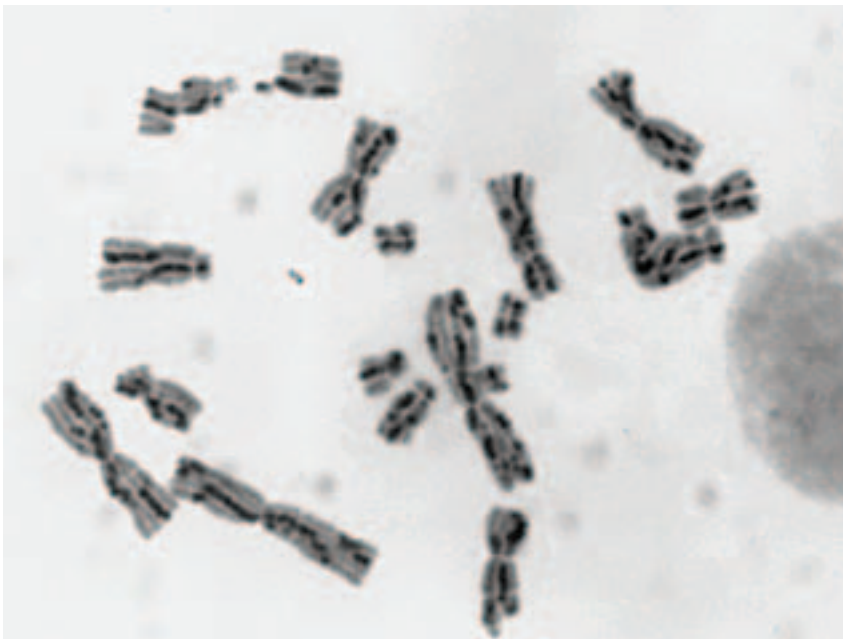
cómo tiene lugar una correcta separación (segregación) de las dos dobles cadenas de ADN que resultan de la replicación durante el período S de la interfase de modo que en la mitosis se encuentre cada una de ellas en una de las cromátidas del cromosoma metafásico. Si tenemos en cuenta la longitud del ADN advertiremos la dificultad que entraña este proceso que ha de ser por una parte rápido y al tiempo admirablemente exacto, ya que los errores se pagan caros. La cuestión es: ¿qué enzima o enzimas se encargan de esta delicada misión

de manera que el proceso esté en lo posible libre de errores?

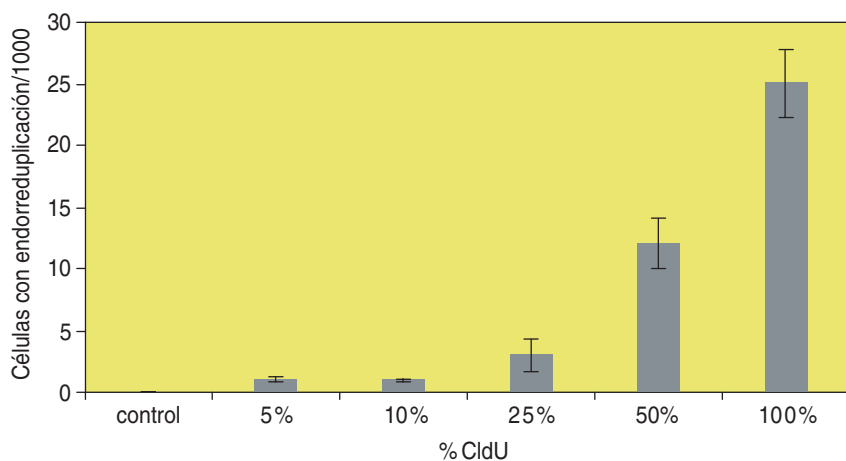
Las topoisomerasas de ADN (topos) son enzimas nucleares muy conservadas evolutivamente que catalizan una variedad de cambios topológicos del ADN fundamentales durante la replicación, transcripción y recombinación. Estas enzimas cortan una de las dos cadenas de la molécula (topo I) o bien ambas (topo II) y tras permitir el paso de la otra cadena o cadenas intactas por la mella creada sellan ellas mismas la rotura. Se logra así relajar el superenrollamiento del ADN que se genera en los procesos arriba mencionados. Una diferencia muy interesante entre ambas topoisomerasas es que exclusivamente la de tipo II es capaz de desencadenar dobles cadenas de ADN, del tipo ya replicado al que nos referimos al principio. Dado que en mutantes de levadura con topo II defectuosa no se lleva a cabo la segregación cromosómica, todo apunta a que dicha enzima es la principal responsable en dicho proceso.

El ciclo catalítico de la enzima topo II para llevar a cabo la topoisomerización del ADN empieza mediante la unión de la misma a su sustrato de ADN bicatenario, proceso que depende de la secuencia de nucleótidos del ADN, así como directamente del mayor o menor grado de plegamiento de la molécula. En cuanto a lo primero, si bien no se ha encontrado hasta ahora una alta especificidad, la topo II corta ambas cadenas del ADN en secuencias preferentes dentro de sus sitios de reconocimiento/unión a la molécula. En cualquier caso, no obstante lo anterior, puede decirse que las reglas que determinan la especificidad de la topo II por determinadas secuencias nucleotídicas en el ADN se desconocen aún en buena medida.

Volviendo a la segregación cromosómica y al posible papel de la topo II, una de las manifestaciones más espectaculares de un fallo en la segregación es la observación de diplocromosomas, los cuales presentan en la metafase cuatro cromátidas en lugar de dos (véase la figura 1). Ello se debe al fenómeno de la endoreduplicación, que consiste en dos rondas sucesivas de replicación del ADN sin mitosis entre ellas al no poder segregarse correctamente las



1. Diplocromosomas (4 cromátidas en lugar de 2) en una metafase tras producirse endoreduplicación por fallo en la segregación cromosómica como resultado de sustitución de timidina por CldU en el ADN de un fibroblasto de ovario de hámster chino en cultivo. La tinción diferencial en tonos claro y oscuro es indicativa de un alto grado de incorporación del nucleósido halogenado en el ADN.



2. Paralelismo entre el porcentaje de sustitución de la timidina en el ADN por un nucleósido halogenado (en este caso CldU) y frecuencia de endorreduplicación observada.

cromátidas por problemas en la separación de los dúplices de ADN tras completarse la replicación.

Se ha publicado que mediante fármacos que interfieren con la topo II se induce la endorreduplicación, lo cual sin duda constituye una prueba adicional de la responsabilidad de la enzima en la segregación cromosómica. Mediante un abordaje alternativo, es decir, sin emplear ningún agente que actúe sobre la topo II, en el grupo de investigación “Cultivo celular y radiobiología” de la Universidad de Sevilla hemos obtenido

resultados que apuntan claramente al papel determinante de la naturaleza del ADN en la segregación cromosómica. La idea de partida era que si realmente existe una especificidad de la topo II por determinadas secuencias de nucleótidos en el ADN para su unión y posterior corte, una alteración importante en dichas secuencias podría resultar en una notable falta de actividad de la enzima; ello se traduciría en fallos en la segregación detectables mediante un incremento en la endorreduplicación. En este sentido, nuestra experiencia

en el dominio de las condiciones experimentales para el control del grado de sustitución en el ADN de la timidina por otros nucleósidos, en este caso halogenados, ha sido un factor decisivo. La elección de dichos nucleósidos halogenados para alterar la naturaleza del ADN tiene la ventaja de que se puede detectar su incorporación en los cromosomas, al producirse alteraciones en la cromatina que resultan en su tinción diferencial.

Elegimos, pues, tres nucleósidos halogenados para su incorporación en el ADN en sustitución de la timidina y observamos el posible efecto en la segregación cromosómica. En todos los casos aparecieron metafases con diplocromosomas. Debíase ese resultado a una mala segregación, siendo la clorodesoxiuridina (CldU) el halogenado más eficaz (véase la figura 2), frente a la yododesoxiuridina (IdU) y bromodesoxiuridina (BrdU). Además, la frecuencia de metafases que presentan diplocromosomas muestra un buen paralelismo con el porcentaje preestablecido de sustitución de la timidina por el halogenado (véase la figura 2). Semejante paralelismo ofrece un apoyo adicional al conjunto de resultados en lo que se refiere a la necesidad de que el ADN se encuentre en su estado natural para que la segregación funcione normalmente.

Una observación muy interesante ha sido la siguiente: cuando el análogo halogenado se incorpora sólo en el ADN naciente no se aprecia un incremento en la endorreduplicación, lo cual parece indicar que es la naturaleza del ADN parental lo que determinaría un correcto reconocimiento por parte de la topo II para su insustituible función en la segregación cromosómica. No obstante, dada la afinidad de la topo II por el ADN superenrollado frente al relajado, no puede descartarse que nuestras observaciones se deban a diferencias en la condensación de la cromatina ocasionadas por la sustitución de la timidina por nucleósidos halogenados en el ADN.

GLOSARIO

Nucleósido: en el ADN, el compuesto (o unidad) formado por la unión de cualquiera de las cuatro bases que lo componen (púrica o pirimidínica) con el azúcar desoxirribosa.

Secuencia nucleotídica: secuencia de las bases del ADN enlazadas con desoxirribosa y fosfato (nucleótidos).

Mitosis: fase del ciclo celular en que se divide la célula y los nuevos cromosomas se reparten entre las dos células resultantes.

Interfase: período entre dos mitosis.

Período S de la interfase: parte de la interfase en que se copia el ADN (la S se refiere a esa síntesis de ADN) y duplica cada cromosoma.

Cromátidas: hebras cromosómicas —procedentes de la duplicación, durante el período S de la interfase, de un solo cromosoma— que se condensan durante la primera parte de la mitosis o profase, se unen en un estrechamiento —el centrómero— durante la segunda o **metafase**, y se desagregan durante la última o anafase.

Superenrollamiento del ADN: enrollamiento del eje en torno al que se enrollan las hebras de la molécula de ADN.

FELIPE CORTÉS BENAVIDES
 Depto. Biología Celular,
 Facultad de Biología
 Universidad de Sevilla