

CURSO PRE-CONGRESO

Daño Oxidativo al ADN

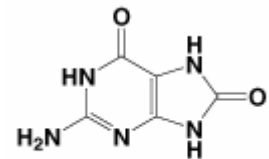
MSc. Gretel Riverón Forment.
Laboratorio de Estrés Oxidativo
Centro Nacional de Genética Médica



DAÑO OXIDATIVO AL ADN

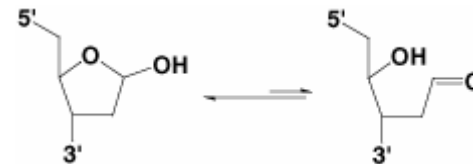
Resultado de la interacción del ADN con las ERO,
en particular con el radical $\text{OH}\cdot$.

- Modificación química de las bases y las azúcares.

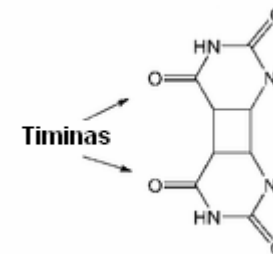


8-oxo-dG

- Pérdidas de bases (Sitios AP).



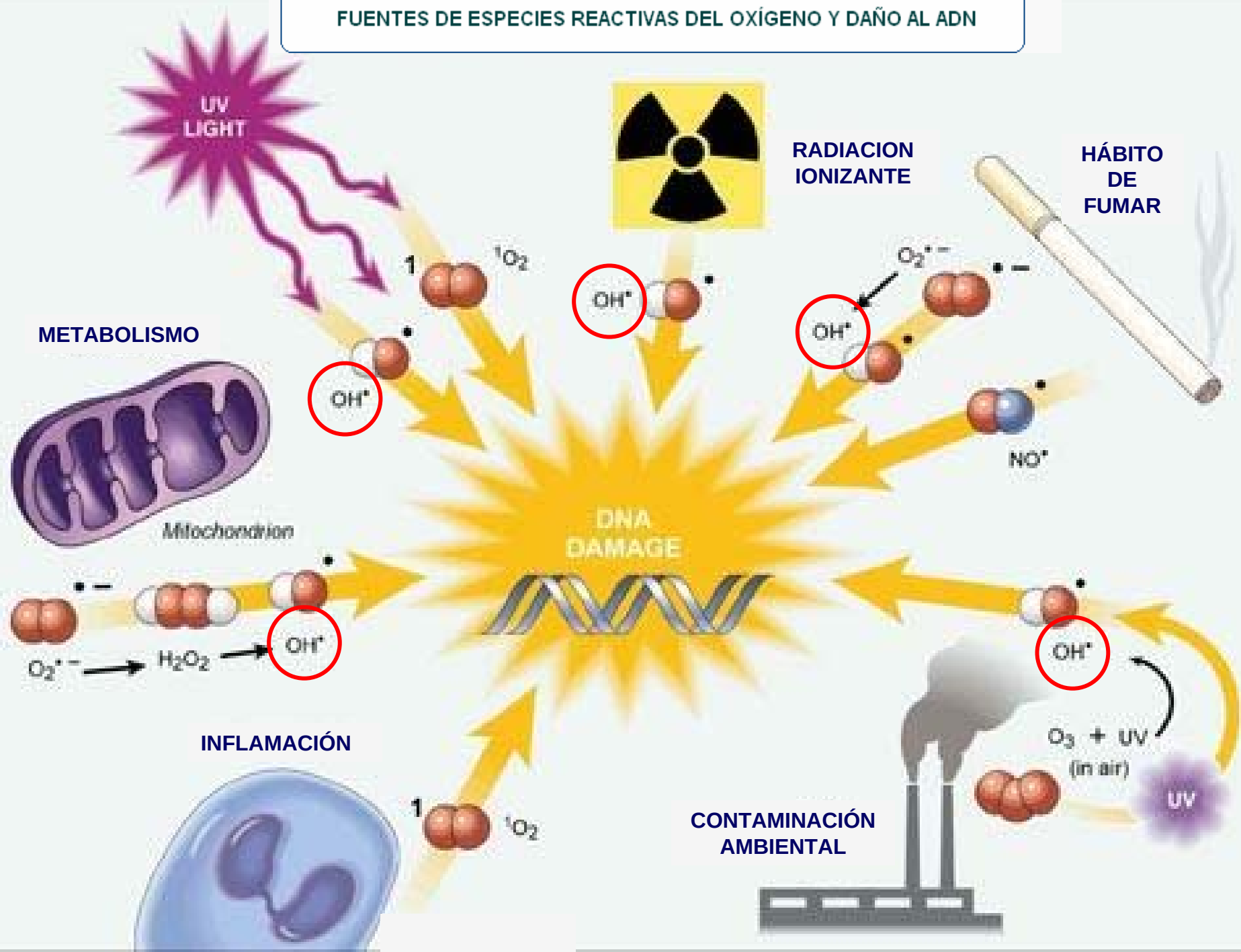
- Formación de enlaces cruzados.



- Ruptura de las cadenas.

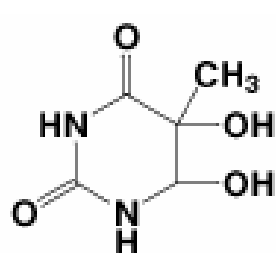


FUENTES DE ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO Y DAÑO AL ADN

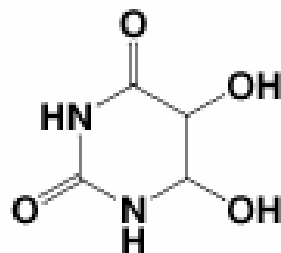


LESIONES OXIDATIVAS DE LAS BASES

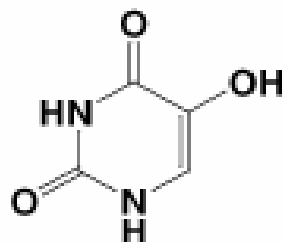
DAÑO OXIDATIVO PIRIMIDINAS



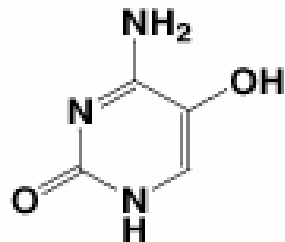
thymine glycol



uracil glycol

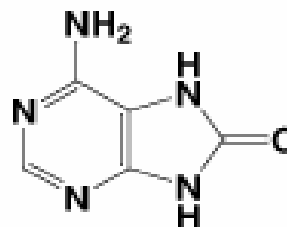


5-hydroxy-dU

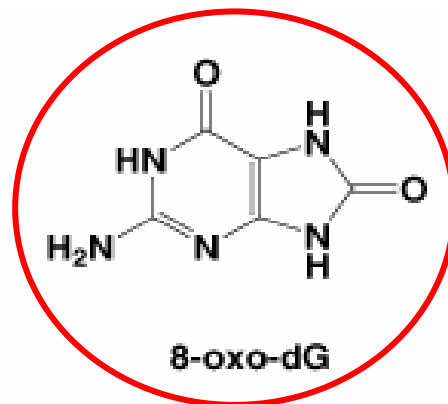


5-hydroxy-dC

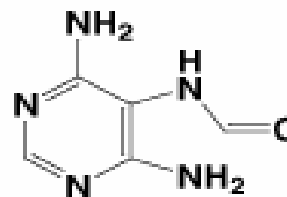
DAÑO OXIDATIVO PURINAS



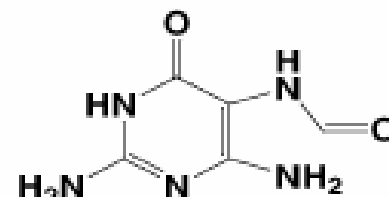
8-oxo-dA



8-oxo-dG



Fapy-dA

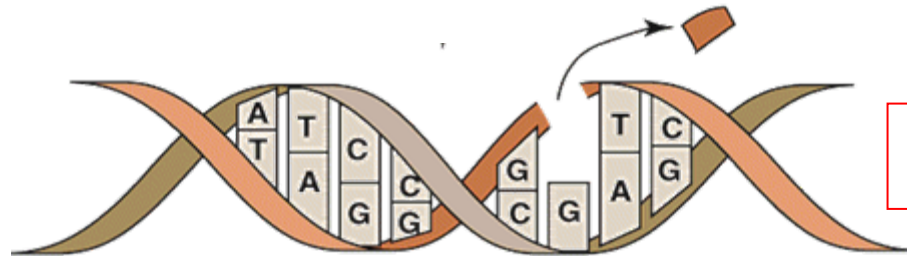


Fapy-dG

200 000 / célula / día

OTRAS MODIFICACIONES DEL ADN

Sitios apurínicos o pirimidínicos, conocidos como **sitios AP**)

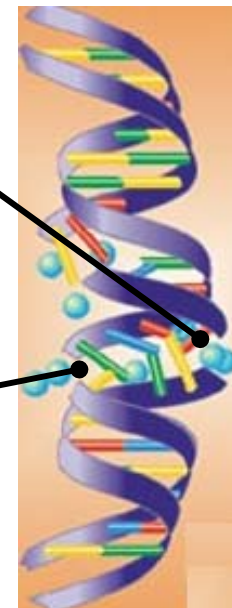


10 000 / célula / día



Roturas de
simple cadena.
Son fácilmente
reparadas

Roturas de doble
cadena.
Altamente
mutagénicas

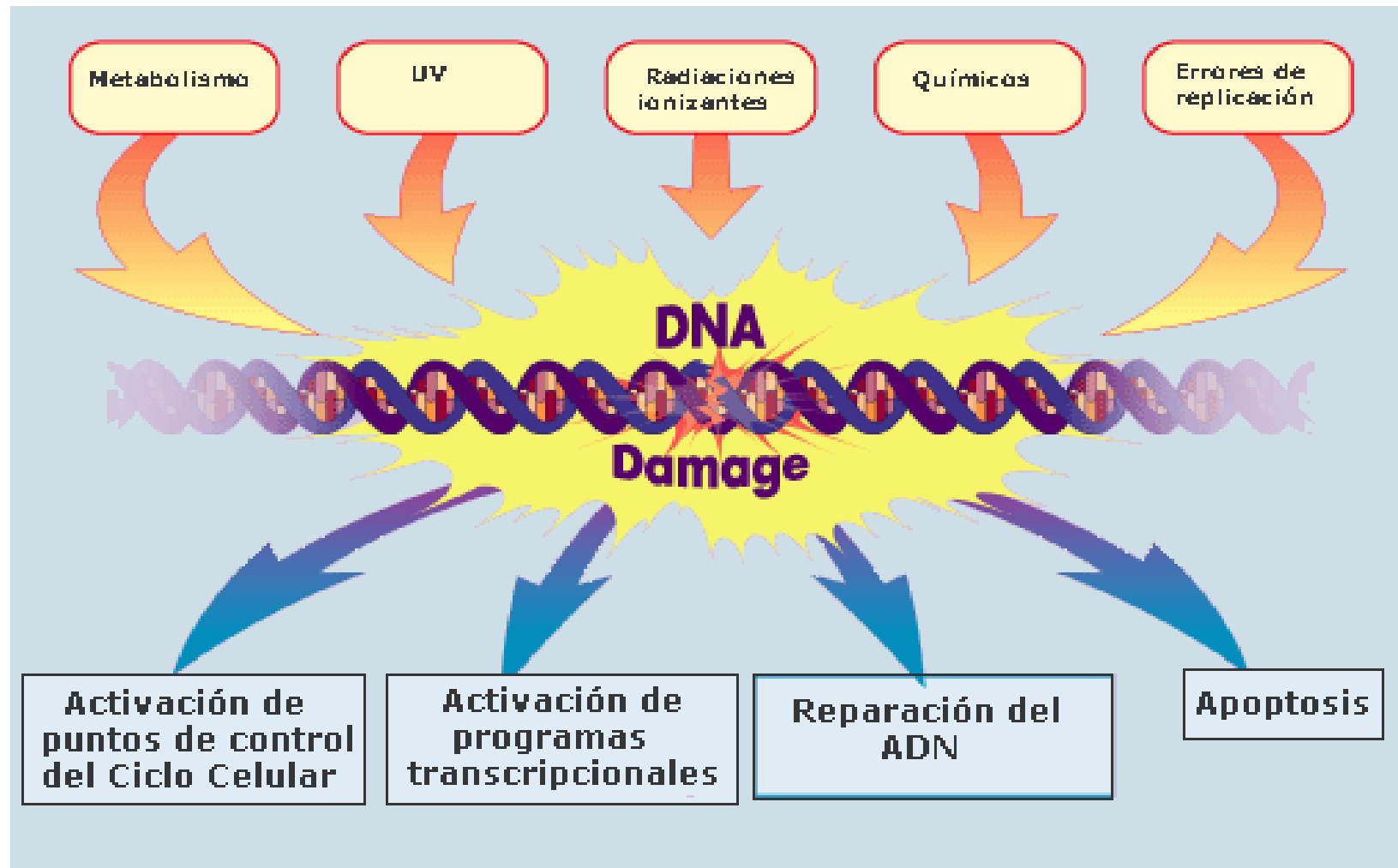


CONSECUENCIAS DEL DAÑO AL ADN

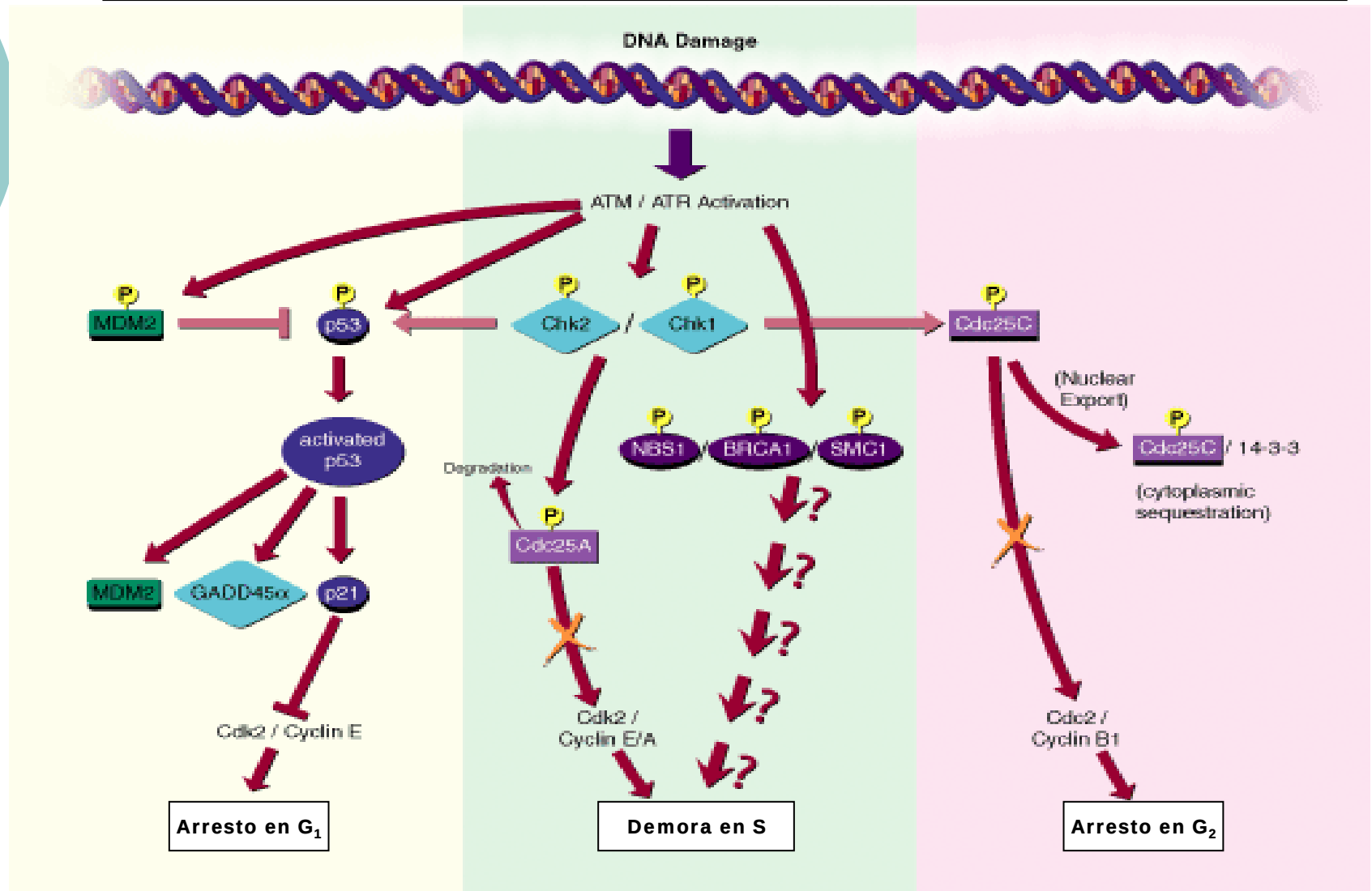
- **Alteraciones en la conformación del ADN (Apareamiento incorrecto de las bases).**
- **Bloqueo de los procesos de replicación y/o transcripción.**
- **Delecciones.**
- **Inestabilidad de microsatélites / pérdida heterocigocidad.**
- **Eventos mutagénicos.**
- **Citotoxicidad.**



RESPUESTAS CELULARES AL ADN DAÑADO



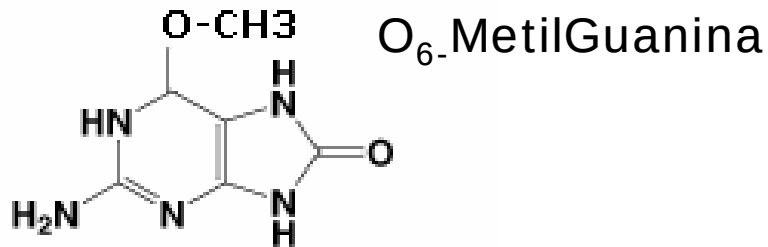
SITIOS DE CONTROL DEL CICLO CELULAR



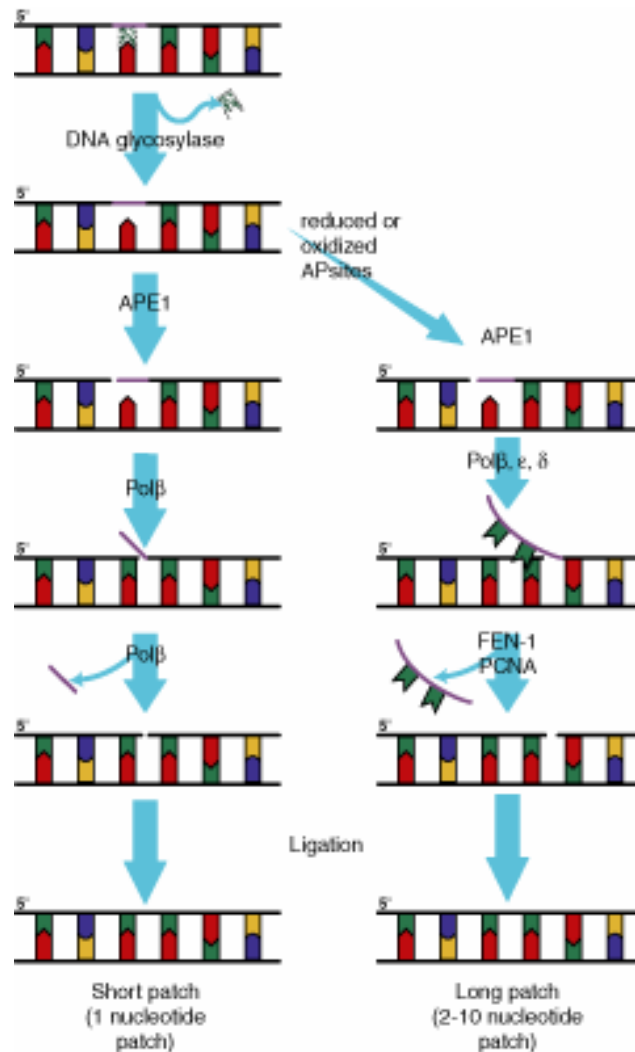
ACTIVACIÓN SISTEMAS DE REPARACIÓN DEL ADN

ACCIÓN DE LA ENZIMA METILGUANINA DNA METIL TRANSFERSA (MGMT)

- Revertir la alquilación altamente mutagénica de la O₆-metilguanina.



ACTIVACIÓN SISTEMAS DE REPARACIÓN DEL ADN

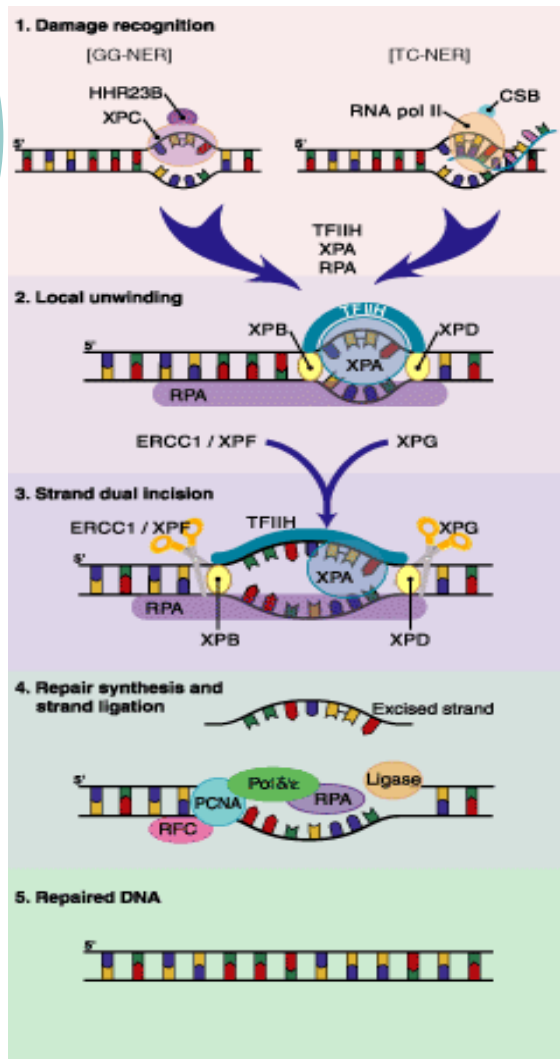


REPARACIÓN POR EXCISIÓN DE BASES (REB)

- ▶ **Bases oxidadas.**
- ▶ **Metilaciones.**
- ▶ **Desaminaciones.**
- ▶ **Pérdida de bases espontáneas.**

- *ADN Glicosilasas*
- *AP Endonucleasa 1 (APE1)*
- *ADN polimerasa β*
- *ADN ligasa*

ACTIVACIÓN SISTEMAS DE REPARACIÓN DEL ADN



REPARACIÓN POR EXCISIÓN DE NUCLEÓTIDOS (REN)

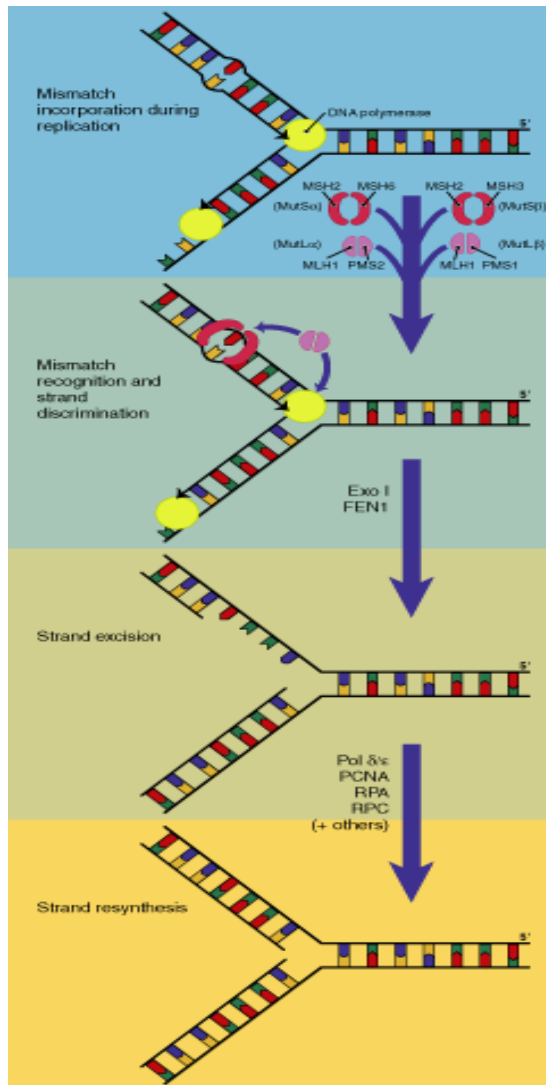
- Dímeros de pirimidinas.
- Aductos químicos voluminosos.
- Entrecruzamientos intracatenarios.

REN genómica global: GG-NER
REN acoplada a la transcripción: TC-NER

Hipersensibilidad severa a las radiaciones UV.

- *Xeroderma Pigmentoso (Genes XPA- XPG).*
- *Síndrome de Cockayne (Genes CSA y CSB).*

ACTIVACIÓN SISTEMAS DE REPARACIÓN DEL ADN



REPARACIÓN DE ERRORES DE APAREAMIENTO (MMR)

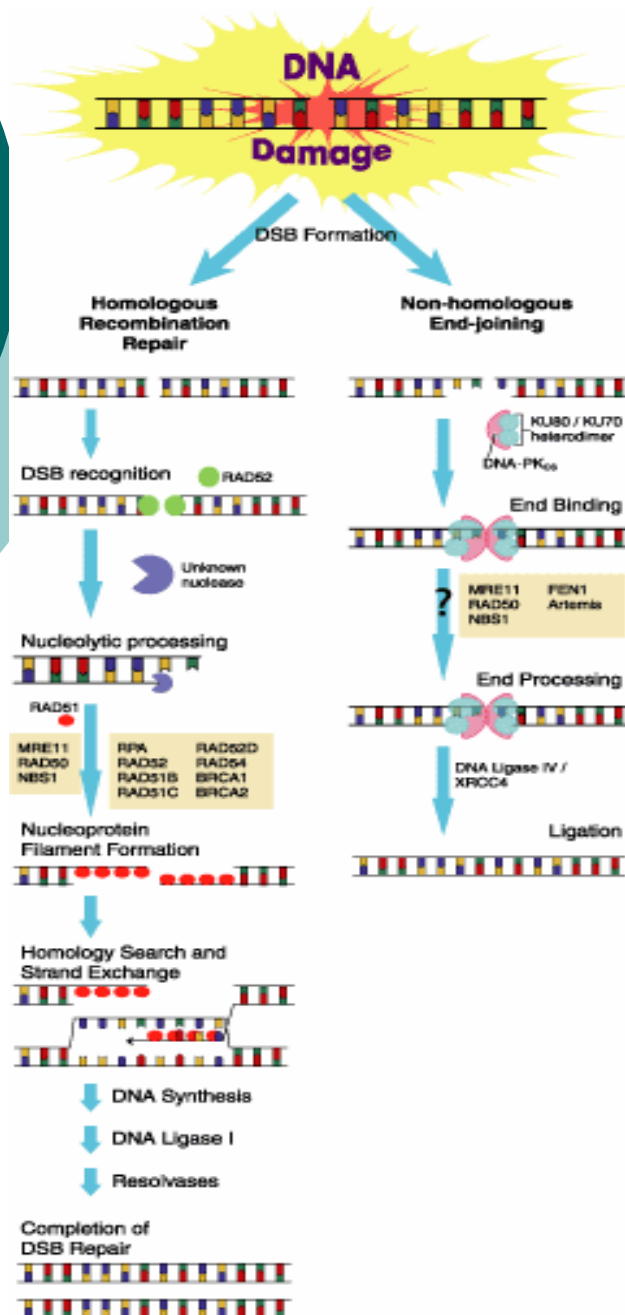
► Corregir los errores de la replicación.

↑ Frecuencia mutaciones espontáneas.

↑ Inestabilidad de microsatélites.

▣ Carcinoma colorrectal no poliposo
(Genes MMR).

ACTIVACIÓN SISTEMAS DE REPARACIÓN DEL ADN



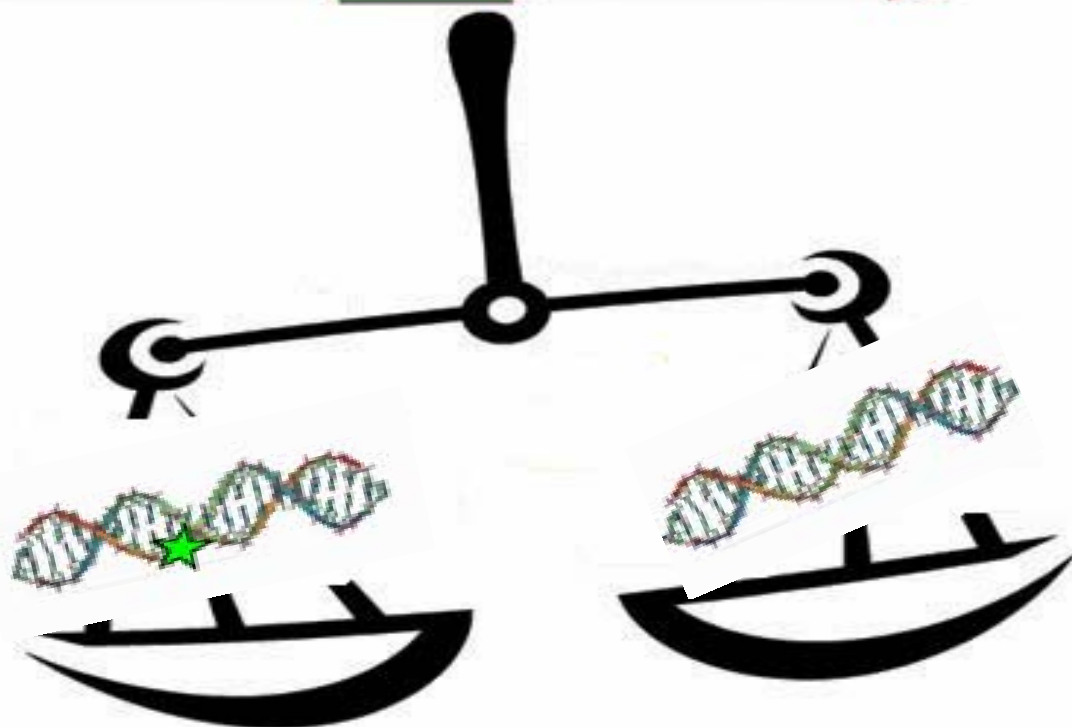
REPARACIÓN ROTURAS DE DOBLE CADENA (DSBs)

- ❑ *Inestabilidad cromosómica.*
- ❑ *Alteraciones en la regulación génica.*
- ❑ *Carcinogénesis.*

EQUILIBRIO FORMACIÓN / REPARACIÓN

Enfermedad

Salud



**Modificaciones
oxidativas**

Reparación

DAÑO OXIDATIVO AL ADN - ENFERMEDADES

Procesos carcinogénicos:

- ✚ Cáncer de mama.
- ✚ Cáncer colorrectal.
- ✚ Cáncer cérvico-uterino.
- ✚ Carcinoma renal.
- ✚ Cáncer de pulmón.
- ✚ Carcinoma hepatocelular.
- ✚ Cáncer de estómago.
- ✚ Enfermedades hematológicas malignas.

Enfermedades Cardiovasculares

Enfermedades hepáticas:

- ✚ Hepatitis viral C.
- ✚ Hepatoblastoma.

DAÑO OXIDATIVO AL ADN - ENFERMEDADES

Sistema Nervioso Central:

- ✚ Enfermedad de Alzheimer.
- ✚ Enfermedad de Parkinson.
- ✚ Esclerosis Lateral Amiotrófica.
- ✚ Esclerosis Múltiple.
- ✚ Ataxia de Friedreich.
- ✚ Enfermedad de Huntington.

Enfermedades genéticas:

- ✚ Síndrome Down.
- ✚ Anemia de Fanconi.
- ✚ Fibrosis Quística.
- ✚ Hemocromatosis Primaria.
- ✚ Enfermedad de Wilson.

Inmunológicas:

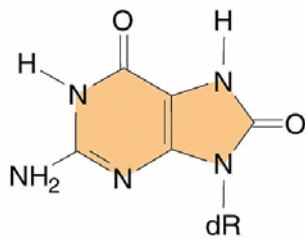
- ✚ Artritis Reumatoide.
- ✚ Lupus Eritematoso Sistémico.

Envejecimiento

¿COMO MEDIR EL DAÑO OXIDATIVO AL ADN?

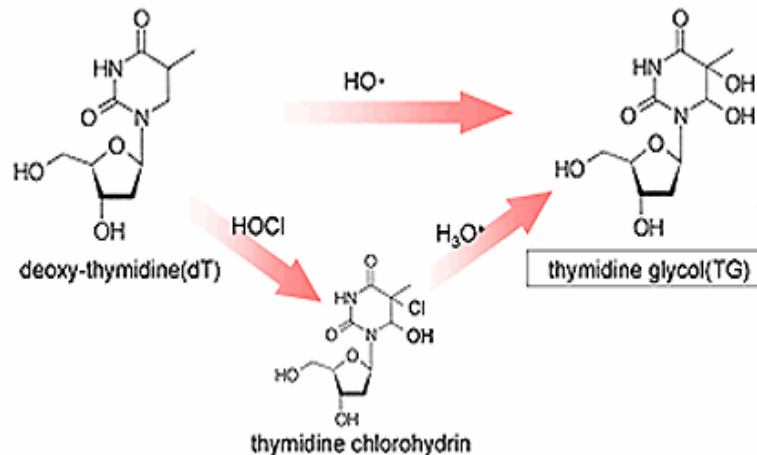
Determinación de concentraciones de las bases oxidadas en fluidos biológicos:

8-oxo dG



**ELISA
HPLC
HPLC/EM/EM**

**Inmunohistoquímica
Timidin-Glicol
(TG)**

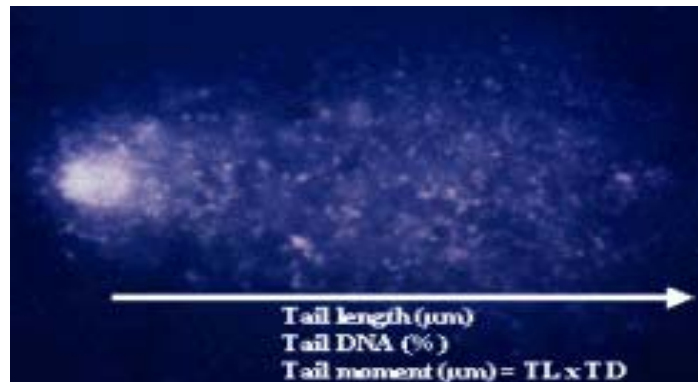


¿COMO MEDIR EL DAÑO OXIDATIVO AL ADN?

ENSAYO COMETA

SIMPLE

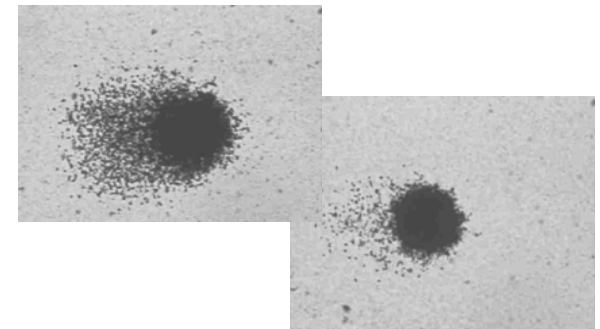
- ▶ Sitios sensibles al alcali.
- ▶ Roturas de simple y doble cadena.



ACOPLADO A ENZIMAS

- ◆ OGG1
- ◆ FPG
- ◆ ENDO III

- ▶ 8-oxo dG
- ▶ Dímeros de pirimidinas.

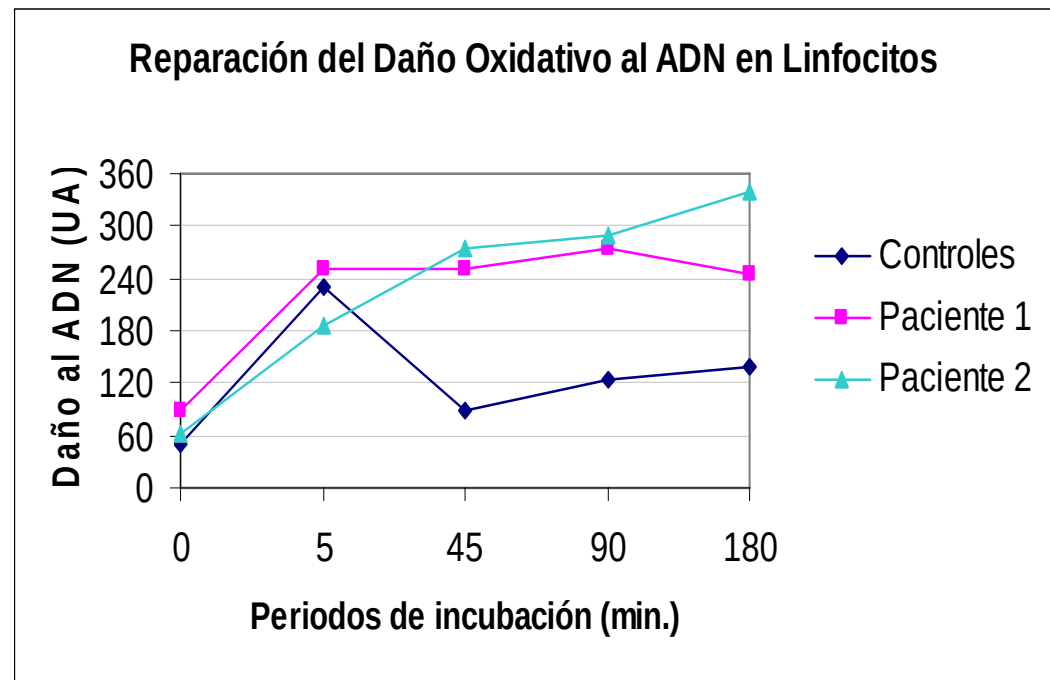


¿COMO MEDIR CAPACIDAD DE REPARACIÓN?

ENSAYO COMETA

Agentes inductores

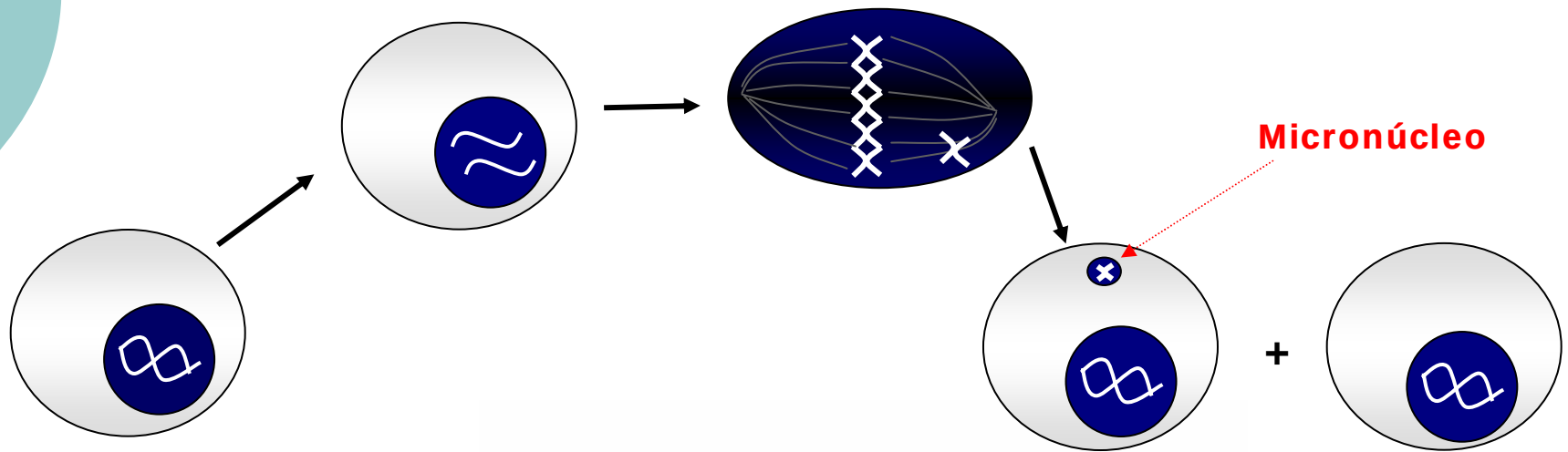
- ⊕ UVC
- ⊕ H_2O_2
- ⊕ Ciclofosfamida
- ⊕ Bleomicina



OTROS ENSAYOS DE GENOTOXICIDAD

BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN

MICRONÚCLEOS



INTERCAMBIOS DE CROMÁTIDAS HERMANAS

