

LAS MUTACIONES COMO PROCESOS BIOLOGICO-MOLECULARES

por el prof. REINHARD W. KAPLAN

Director del Instituto de Microbiología de la Universidad de Francfort

La vida es conservadora y progresiva al mismo tiempo. Los seres vivos se conservan y multiplican y al hacerlo legán hereditariamente a sus descendientes sus cualidades y capacidades. Ahora bien, con ello se transforman, adquiriendo aptitudes, formas y modos de vida siempre nuevos. Es así la vida una constante creación, un comienzo perenne de cada vez mayores y más diversas posibilidades del ser. Este cambio creador se verifica en dos esferas temporales: en la historia de la vida del individuo y en la historia del reino de los organismos como totalidad, en la llamada evolución histórico-genealógica o filogénesis. El primer tipo de cambio nos es conocido por nosotros mismos, por nuestros prójimos, también por los animales domésticos, etc., en virtud de la observación y vivencia directas del desarrollo genético, infancia, juventud, madurez, vejez y muerte. En el ser humano, y en menor medida en los animales superiores, este cambio se basa, en gran parte, tanto en la acumulación y adopción de experiencias como en la personal inventiva y manipulación, es decir: en logros del cerebro. El producto de la acción conjunta de estas actividades en una comunidad humana es la cultura. Es principio fundamental de la actividad espiritual creadora el juego combinado de probar y elegir después del éxito. El juego de la fantasía o el variar de facto de nuestras acciones suministra, por lo pronto, una serie de posibilidades o variantes, de las que elegimos las que se adaptan a nuestros deseos o necesidades, aplicándolas entonces y en algunos casos comunicándoselas a otras personas. Este principio de la elección y la variación de lo apto es también el principio creador en otra esfera de la transformación orgánica: en la de la evolución histórico-genealógica. Mientras el cambio en el individuo sólo ocurre históricamente una vez y como creación nueva, sobre todo en el ser humano y en los animales superiores, vale esto igualmente en lo que se refiere a lo histórico-genealógico en todos los niveles de la organización. Incluso los monocelulares más simples, las bacterias, los propios virus, que apenas semiviven, evidencian todos los elementos fundamentales de esta transformación creadora de las especies. Ciertamente esta evolución no nos es familiar en forma inmediata, ni puede serlo en absoluto. Pues se trata de un proceso tan lento que no es perceptible en el transcurso de una vida humana, o sólo excepcionalmente lo es. Para la transformación de una especie de organismos se requieren miles de generaciones, es decir, épocas enteras de la historia de la tierra. La biología, por lo tanto, sólo en virtud

de indicios ha podido comprobar este cambio. Ciertamente el material de prueba de la morfología comparada, suministrado por el estudio de los fósiles y otras esferas de la investigación, es hoy de tan abrumador carácter, que sería insensatez dudar aún.

¿Por qué se verifica con tamaña lentitud la transformación de las especies y qué es realmente la estructura causal que produce e impele la evolución filogenética? Para ambas preguntas ha encontrado la biología bien probadas respuestas. Incluso podemos decir que el sistema causal de este vital proceso creador ha llegado a ser comprensible hasta sus raíces más profundas. Se sitúan estas raíces en el terreno de las estructuras moleculares de la célula. Y la evolución puede ser lógica y causalmente comprendida, de modo perfecto, como acción de estas vitales estructuras moleculares.

El proceso fundamental que se verifica en estas estructuras moleculares y que en cierto modo representa en la historia genealógica la fuerza impelente, el motor, es la mutación. Se llaman mutaciones a los cambios en las estructuras hereditarias de una célula que traen consigo nuevas peculiaridades heredables. La evolución de las especies se basa, pues, en cambios que sólo manifiestan su influjo en los descendientes. Son transmitidos a otros individuos por la procreación y sólo por medio de las células genéticas (o sus equivalentes) y justamente sólo a los descendientes. Estos los transmiten a su vez a sus descendientes y por tal modo se reiteran las características hereditarias, a través de las generaciones, siempre de nuevo.

Este permanente retorno de las cualidades de los padres en sus descendientes es una esencial parte constitutiva de la vida: le llamamos herencia. La herencia es un principio conservador de la vida, toma a su cargo la tarea de que se mantenga lo logrado y probado, en la multiplicación y a pesar de ella. El cambio filogenético de las especies se basa, por el contrario, en la interrupción de esta herencia conservadora, es decir: en la no herencia. En ocasiones, pues, se basa en la aparición de diferencias entre padres y descendientes. Estas excepciones de la herencia son las mutaciones. Como en la mayoría de los casos las características de los padres son heredadas por la procreación, siendo, pues, raras las mutaciones, se comprende que el cambio hereditario filogenético revele una lentitud mucho mayor que el cambio basado en la inventiva y la transmisión de los logros del cerebro humano, de la cultura. Por eso la filogénesis sólo es perceptible en el transcurso de muchas generaciones.

En este proceso creador desempeñan las mutaciones la misma función que el juego de variaciones de nuestra fantasía en el desarrollo de la cultura humana: generan una multiplicidad de variantes. Entre estas variantes hereditarias o "mu-

tantes", se multiplican con mayor rapidez aquellas que se adaptan mejor, por simple contingencia, a las condiciones del medio. Estas mutantes contingentemente en ventaja, que son siempre pocas, superan por lo tanto en crecimiento al tipo paterno, lenta o rápidamente, así como a los muchos tipos de mutantes menos bien adaptados o de escasa capacidad vital. Por tal aparición de múltiples y desajustadas mutantes en una multitud de individuos que se multiplican y en virtud de la selección por el medio de las mutantes que más rápidamente se multiplican, avanza la evolución en el sentido de un incremento de la adaptación superior, de la superior variedad de tipos y de una superior aptitud de organización de los seres vivos.

En las bacterias, que se multiplican rápidamente y en las que, frecuentemente, una generación dura, por ejemplo, media hora, puede observarse directamente en ensayo de laboratorio esta adaptación filogenética, dentro de un medio alterado, en virtud de mutación y selección. El desarrollo de tipos que resisten a la quimioterapia es un proceso filogenético de transformación basado en el principio de selección de las mutantes que hemos descrito y que ocasiona grandes dificultades a nuestra medicina.

La biología ha comprobado la validez, para la totalidad del reino de los organismos, de esta teoría de la selección de las mutantes establecida hace cien años por Darwin. También el hombre es un resultado de la acción y selección, de Muchos millones de años, de las mutantes. Ha dado lugar a la tan fascinante acumulación de formas plenas de finalidad en el terreno de la vida durante la historia de la tierra, ciertamente en un lapso de dos a tres mil millones de años. A la par ha hecho surgir su maravillosa variedad y aptitud organizadora. La variación y la selección, son también, por lo tanto, el principio creador de la evolución. El motor de esta evolución es la mutación, como hemos dicho ya. Las mutaciones acaecen en una multitud de organismos, que van multiplicándose, con escasa frecuencia, pero en forma constante y con gran variedad. Y por lo pronto no se ajustan a la adaptación, ni a otro tipo de progreso. Apenas hace 40 años que se logró por vez primera aumentar artificialmente la frecuencia de estas mutaciones irradiando con rayos Röntgen la mosca del rocío. Más tarde ha sido estudiada con más rigor la mutación artificial. Además de otros tipos de rayos, como los ultravioletas, alfa, rayos de neutrones, se descubrieron numerosos productos químicos que pueden provocar mutaciones: los llamados mutágenos. Para estas investigaciones fueron muy útiles los microbios, especialmente las bacterias y los virus, pues se multiplican rápidamente y en grandes masas de individuos. Ha sido así posible el hallazgo, en número suficiente, de los bien raros procesos de mutación y la mensura exacta de sus frecuencias. Las frecuencias naturales para

determinadas mutaciones —la resistencia contra un veneno o determinadas necesidades de materias nutritivas, por ejemplo—, se calculan de una por cada 10 ó 100 millones de células por generación. Por medio de rayos o sustancias mutagénicas pueden ser aumentadas en 10 ó 100 veces.

Pronto se encontraron indicios, en el curso de estos estudios, en el sentido de que las mutaciones tienen que obedecer a determinados procesos moleculares en las células. Esta idea se concretó cuando la genética, en combinación con la bioquímica de la naturaleza, estuvo en condiciones de aclarar la índole de las estructuras celulares que representan el fundamento material de la herencia.

Al buscar una explicación de la reiteración de características en la multiplicación, nos acucia la idea de que este proceso responde a la transmisión de estructuras materiales como responsables de la aparición de tales características. Estas sustancias hereditarias tendrían que contener de algún modo las informaciones, es decir, una especie de modelo de señales o escritura que prescribe la elaboración de las características en la célula y en el individuo multicelular. Ahora bien, esta sustancia hereditaria tendría que ser multiplicada antes de toda división celular, es decir, deberían ser elaboradas por lo menos todas las copias necesarias para que cada célula hija pueda recibir una.

Ya hace unos 70 años las investigaciones microscópicas de la división de las células hicieron sospechar que los hilos de los cromosomas del núcleo celular son el vehículo de estas sustancias de información, pues son exactamente duplicados y con idéntica exactitud distribuidos a las células hijas. Más tarde la investigación de la herencia pudo convertir esta sospecha en seguridad —en virtud de muy ingeniosos ensayos de cruce, por ejemplo—, incluso, para diversas características, localizar el asiento de estas informaciones en los cromosomas.

Ahora bien, ¿cuál es la naturaleza química de esta sustancia hereditaria, cuál es el cariz de la escritura genética y cómo se produce el proceso de copia? Este problema, que hace unos 20 ó 30 años parecía insoluble, ha sido ampliamente resuelto por la biología combinada con la bioquímica y la biofísica. Se empezó —hace unos 20 años— obteniendo de las bacterias una sustancia por medio de la cual pueden transmitirse peculiaridades hereditarias de las bacterias dadoras a otra especie de bacterias. Dicha sustancia debe contener, por lo tanto, las informaciones genéticas, representando así la sustancia hereditaria. Fue identificada químicamente como el ácido desoxirribonucleínico (DNS) y hacía ya mucho que era conocido como parte constitutiva de los cromosomas. Hace unos doce años el DNS pudo ya ser analizado a tal punto que fue posible confeccionar un modelo estructural que hizo comprensible su aptitud de vehículo de informaciones y de capacidad de copia. El DNS consta de moléculas gigantes de largos hilos, com-

puestas de varios miles de elementos constructivos micromoleculares. Hay varias clases de estos elementos constructivos llamados nucleótidos, constando cada uno de una molécula de fosfato y una de las cuatro bases heterocíclicas adenina (A), guanina (G), tiamina (T) y citosina (C). Estas cuatro clases de elementos constructivos están alineadas en una larga cadena, dando lugar a un modelo de cuentas o letras formado —de modo análogo y distinto— con las cuatro clases de bases (A, G, T y C) individualmente típico para cada tipo de molécula DNS.

Este modelo de bases es la escritura de 4 letras de la información genética. Una molécula de DNS consta de dos de estas cuerdas de nucleótidos yuxtapuestas paralelamente manteniéndose en un par, por virtud de fuerzas químicas, cada dos bases situadas la una enfrente de la otra. En este apareamiento, sin embargo, la A coincide siempre con la T y la G con la C. Por tal manera, aunque no son idénticos, se determinan, recíproca y exactamente, los modelos de bases de ambas cuerdas, compensándose como complementarios.

En esta complementaridad de las dos cuerdas de DNS se sitúa la clave para el proceso de copia. Este se verifica por lo pronto de modo que ambas cuerdas quedan separadas. Paralelamente a cada cuerda son luego alineados nuevos nucleótidos y asociados a la segunda cuerda. En este proceso las bases de la primera cuerda sólo admiten la estratificación de los nuevos nucleótidos complementarios adecuados, es decir: A sólo admite T, T sólo admite A, G sólo admite C y C sólo admite G. Sobrevienen así dos moléculas de DNS que son vehículo de idéntico modelo exactamente que sus pares de bases y contienen, por lo tanto, la misma información. Cada una consta de una vieja y una nueva cuerda y es la copia de la otra. Puede verificarse ya hoy, fuera de la célula, en el tubo de ensayo, el proceso de copia (replicación DNS). Para ello tenemos, además de los cuatro elementos constructivos, una enzima especial obtenida de células (la polimerase DNS), junto con algo de DNS como modelo. Surge entonces automáticamente nuevo DNS del modelo del tipo DNS. Con ello queda aclarado el proceso fundamental de la herencia como un proceso puramente material que sólo responde a leyes fisicoquímicas.

Ahora bien, ¿cómo interviene ese vehículo de información que es el DNS en el acaecer vital de la célula y gobierna la formación de las señales? También ha podido elucidar este problema la biología molecular en los últimos años. El acaecer en la célula consiste sobre todo en la transposición química de sustancias. Este metabolismo es una coordinada y complicada urdimbre de cadenas semejantes a fluidas cuerdas de ritmos de reacción en sucesión temporal. Sobre la base de la nutrición, por ejemplo, son generados por este sistema de fluidas cuerdas los elementos constructivos del DNS y otros ácidos nucleínicos, además de las proteínas. La mayoría de estos ritmos de reacción son realizados por “obreros espe-

cializados": las proteínas enzimáticas. Una célula contiene millares de este tipo de enzimas y este ejército de enzimas genera y determina las peculiaridades y aptitudes de una célula y del individuo multicelular formado de células.

Las proteínas enzimáticas son también moléculas gigantes de cadenas de muchos centenares de elementos de construcción, los aminoácidos, de los que hay 20 clases. Cada tipo de enzimas, y con ello sus cualidades y aptitudes, está determinado por el acadenado modelo de sus aminoácidos. Ahora bien, la genética bioquímica ha averiguado que este característico modelo está exactamente determinado en una enzima del modelo nucleotídico de una clase de moléculas DNS. Se conoce ya también el mecanismo molecular de esta transmisión del modelo DNS, es decir, la escritura de 4 letras del modelo proteínico: una escritura de 20 letras por lo tanto. Incluso se ha conseguido realizar estos complicados procesos fuera de las células: en el tubo de ensayo. Para ello el modelo del DNS es transferido por lo pronto al modelo de nucleótido de otro ácido nucleínico (RNS) de una cuerda. Esta RNS (llamado RNS mensajero) gobierna luego la construcción, con los aminoácidos, de la correspondiente proteína, por completo determinada en el modelo. En tal proceso, un aminoácido en la proteína corresponde a un grupo de tres nucleótidos próximos en el mensajero RNS y con ello en el DNS. Se llama a una molécula DNS que determina una enzima o bien otra proteína, un gene. Un cromosoma contiene miles de estas clases de genes ordenados en hileras y es portador, con ello, de la información para la elaboración, en gran número, de las correspondientes proteínas. Está claro, según lo expuesto, que merced a la replicación del DNS antes de cada división celular y en virtud de la exacta distribución a las células hijas de las dos remesas de genes así producidas, tendrán que tener estos descendientes el mismo equipo de proteínas y con ello las mismas características que la célula paterna.

Con estos atisbos en las causas de la herencia podremos comprender ya el proceso de la mutación. Al representar las mutaciones cambios hereditarios de cualidades, tienen que ser también necesariamente cambios de la información genética, es decir, el modelo de nucleótidos en el DNS. Hace ya muchos años que se conocen mutantes, de la mosca del rocío, por ejemplo, que evidencian efectivamente cambios constructivos en los cromosomas, microscópicamente visibles, como pérdidas, duplicaciones y demás trastrueques de secciones de los ahilados cromosomas. Muchas mutantes, sin embargo, no evidencian tan groseros cambios: sus parte alteradas por mutación deben tener dimensiones submicroscópicas.

Utilizando virus materiales, los llamados fagos, pudo demostrarse hace algunos años que los cambios químicos en el DNS traen consigo, efectivamente, mutaciones. Los fagos submicroscópicos constan de DNS con una envoltura proteínica. En

la infección de bacterias sólo el DNS se introduce en la célula, acarreando en ella la multiplicación y formación de nuevos fagos completos que al reventar la célula quedan en libertad, representando así una descendencia de los fagos infecciosos. Ahora bien, si se tratan los fagos con un producto químico que ataque químicamente al DNS y se infectan luego con él las células y se investigan los nuevos fagos que sobrevienen, se verá que una parte de la descendencia de estos fagos evidencia mutaciones. La frecuencia de éstas aumenta con la duración de la acción o de la concentración del producto químico. Ensayos químicos han demostrado que la hidroxilamina sólo combina con la citosina del DNS. Los fagos tratados con ella evidencian un incremento de la frecuencia de la mutación proporcional al lapso de la acción, lo que responde a una reacción química del orden 1. Deberá concluirse de esto que ya la modificación de una sola molécula de citosina en el DNS puede acarrear una mutación. Evidentemente, pues, el cambio de una sola letra en la escritura de información de un genes puede traer consigo una mutación. Si es certera esta presunción habrá que suponer que semejante mutación de una letra sólo altera un aminoácido en la enzima, determinada por el genes de que se trate en su modelo aminoácido. Efectivamente se ha conseguido en trabajos de laboratorio, tanto en la bacteria coli como en el virus del mosaico del tabaco, comprobar químicamente en la proteína de mutantes estas alteraciones de un solo aminoácido entre cientos de moléculas proteínicas. Este intercambio de aminoácidos provoca una alteración en la acción catalítica de la enzima, una atenuación o una desaparición, de esta actividad, por ejemplo, en las mutantes investigadas.

Sin embargo, no todo intercambio de aminoácidos en una enzima altera la actividad enzimática revelándose como señal de mutación. Se debe esto probablemente a que la acción catalítica es sólo ejercida por una pequeña sección de la molécula gigante. Sólo los intercambios que influyen en esta sección activa son reconocidos como señal de mutantes. Trae esto consigo que no todos los pares de nucleótidos de un genes estimulan con igual fuerza una alteración mutativa. Dentro de un genes pueden localizarse sitios que con especial frecuencia provocan mutación (los llamados "hot spots"), mientras otras regiones sólo raramente acarrear mutaciones o no provocan en absoluto mutaciones comprobables. Estos "sitios blancos" de la mutabilidad en un genes son estudiados con especial exactitud en los fagos T 4 de la bacteria coli.

Ahora bien, en la aparición de esta diferencia de estímulo mutativo de las regiones en el modelo nucleótido de un genes tiene que participar un segundo motivo. Al comparar los sitios fuertemente mutantes de un genes o bien las frecuencias de mutación de varios genes bajo la acción de diversos estimulantes de

la mutación, se manifiestan diferencias en los efectos de estos mutagenes. Un mutagene provoca de preferencia la mutación de estas regiones en el genes estudiado o de este gene, otro mutagene la de otras regiones o genes. El espectro de los tipos de mutación depende del agente que provoca la mutación. Se llama a este fenómeno acción electiva de los agentes de la mutación. Puede ser interpretada como secuela de la distinta estructura química, del modelo de las bases, por lo tanto, de las diversas regiones del gene, así como de los genes en conjunto.

Los diversos modelos de nucleótides reaccionan diversamente a los mutativos según la naturaleza química de éstos y la suya propia. Como ya hemos dicho, la hidroxilamina ataca de preferencia a la citosina, otros mutagenes alteran sobre todo, en cambio, la guanina, mientras a su vez otros prefieren varios tipos de bases. Los ultravioleta alteran igualmente la citosina, pero de modo distinto que la hidroxilamina, y también la tiamina, combinando aquí los uv dos tiaminas yuxtapuestas en una doble molécula, una dimer, como se le llama. Los influjos de las bases vecinas sobre la mutabilidad de una región en el DNS se observan también en las demás bases. Contribuyen a destacar los "hot spots" de las demás regiones del genes.

La electividad de los mutagenes acarrea, en la mayoría de los casos, sólo pequeñas diferencias entre las frecuencias de mutación de los diversos genes. Puede pensarse en casos, sin embargo, y de ello poseemos indicaciones, de mutagenes muy puntillosos en su electividad, que sólo atacan fuertemente a muy pocos genes en una célula. Mas no puede preverse aún la importancia de estos casos en la generación práctica de determinadas mutaciones deseadas.

El efecto del ataque al DNS por un mutagene consiste en la alteración del modelo de bases del DNS. Sólo cuando el nuevo modelo es hereditariamente transmitido es confirmada una mutación. Ahora bien, los agentes mutagenes casi nunca generan en forma inmediata un nuevo modelo de modo que, por ejemplo, en vez del par AT surja al punto un CG. Por lo pronto es alterada químicamente una base dada del DNS, un grupo NH_2 , por ejemplo, es transformado en un grupo OH, es acoplado otro grupo atómico o bien se hace saltar totalmente una base. Una región perturbada así en el DNS no es todavía una mutación: es sólo una fase previa, una premutación. Sólo se convierte en mutación cuando en la próxima duplicación del DNS en virtud de una falla del apareamiento de las bases da motivo a la estructuración de una base distinta a la anterior. A menudo se localiza la premutación en sólo una de las dos cuerdas del DNS. Se provoca luego mutación en sólo una de las copias: la otra se mantiene normal. Surgen así de la célula premutada descendencias mestizas de mutantes y normales.

Pero no todas las premutaciones acarrearán semejante falla de replicación y con ella una mutación. Una parte, incluso muchas, pueden desaparecer en la próxima multiplicación del DNS, retornando al estado normal o siendo, de algún modo, eliminadas. Esta reversión de premutaciones puede demostrarse en muy bella forma exponiendo a la luz visible la célula después de haber sido irradiada con ultravioletas. Se advertirá que la destrucción de la célula por la acción de los rayos ultravioleta no sólo es atenuada por la iluminación, sino que es atenuada igualmente la frecuencia de las mutaciones por inducción ultravioleta. Esta reversión lumínica de las premutaciones por los ultravioleta y los letales deterioros, se producen por la acción de una enzima especial de la célula. Se le ha extraído, demostrándose en el tubo de ensayo que elimina las dimeres de tiamina del DNS, que —como se ha dicho— son generadas en el DNS por los rayos ultravioleta. Con estos ensayos se ha demostrado al mismo tiempo que las premutaciones de los ultravioleta representan, en parte, estas dimeres. Ultimamente se han descubierto nuevas enzimas reparadoras, que incluso sin luz, eliminan en el DNS alteraciones premutativas o letales, y no sólo dimeres. También otros productos químicos. Todos estos conocimientos de la genética de las mutaciones han bosquejado ya una imagen bien concreta del acaecer en las mutaciones inducidas. Queda por preguntar, finalmente, qué es lo que sabemos sobre la génesis de las mutaciones naturales, las llamadas mutaciones espontáneas, que impulsa la evolución. La comparación con las artificiales, con las inducidas, demuestra que ellas también representan un cambio en la escritura, de la misma índole, y que surgen también tras fases previas premutativas. Como causas primarias de estas premutaciones espontáneas se toman en cuenta por lo pronto productos normales del metabolismo en las células. En algunos casos se han revelado como mutagenes, por ejemplo, la adenina, y la más rara purina natural, cafeína, por ejemplo. Se piensa además en la eyección de bases del DNS por ocasionales movimientos calóricos supra-fuertes. Pero hasta hoy no hay seguridad, ciertamente, de que sean causa de mutaciones espontáneas. La irradiación natural —la cósmica o la radiactividad del suelo, por ejemplo— sólo habrá de ser considerada, por su debilidad, como causa de una pequeña parte de las mutaciones espontáneas. Hay hoy muchos motivos para suponer que la célula posee enzimas especiales que provocan las mutaciones naturales por ataque directo al DNS. Esperemos que en el futuro se consiga localizar estas enzimas de mutación y obtenerlas de las células. El enigma de la mutación, ese creador proceso de la vida, quedaría entonces totalmente resuelto.