

Resumen

La radiación ultravioleta está asociada a la formación de ciertas lesiones en el ADN que están en el origen del cáncer de piel. Entre las más relevantes se encuentran los daños que se producen en las bases pirimidínicas: los dímeros ciclobutánicos (CPDs) y fotoproductos (6-4) (6-4PPs). Como protección contra las fotolesiones del ADN, los organismos vivos disponen de enzimas que restauran las lesiones a su forma original, manteniendo así la integridad genética. Algunos organismos manifiestan un proceso de reparación adicional de los CPDs y los 6-4PPs, que corresponde a la fotorreactivación y que involucra enzimas denominadas fotoliasas CPD y (6-4). En concreto, actualmente existe una viva discusión sobre el mecanismo de reparación por la fotoliasa (6-4). El objetivo general de esta tesis doctoral ha sido estudiar la ciclorreversión de los intermedios clave propuestos para la lesión 6-4PP para apoyar uno de los mecanismos propuestos hasta ahora.

En primer lugar se ha preparado un modelo de la azetidina intermedia de la lesión 6-4PP en secuencias TC para investigar su reparación mediante un proceso de donación de electrones a través de fotosensibilizadores con un potencial redox adecuado, mimetizando así el cofactor flavina de la fotoliasa (6-4). Los estudios de electroquímica, espectroscopía, análisis y química computacional mostraron que la posibilidad de inyectar un electrón al anillo de la azetidina conlleva una ciclorreversión de la azetidina bipyrimidínica generando las bases timina y 6-azauracilo. También se ha evidenciado que la transferencia de electrones sólo tiene lugar si el componente timina está presente en el modelo.

En segundo lugar, se ha investigado la ciclorreversión de la azetidina mediante un proceso oxidativo en cual el anillo de azetidina dona un electrón al fotosensibilizador. La comparación con un derivado ciclobutánico mostró que la presencia del nitrógeno en el anillo de cuatro miembros disminuye el potencial redox facilitando el proceso de oxidación.

En tercer lugar, el paso de ciclorreversión se ha estudiado con dos fotosensibilizadores intrínsecos, la guanina y el daño oxidativo 8-oxoguanina (OG), unidos covalentemente a un CPD o a un oxetano, como modelo del intermedio formado en la reparación del daño (6-4). En conjunto, los datos de espectroscopía y análisis cromatográfica mostraron la posibilidad de que estos fotosensibilizadores endógenos pueden actuar como dadores de electrones mimetizando, por tanto, la función del cofactor flavina en la fotoliasa.

Finalmente, el anillo de azetidina ha sido incorporado en un oligonucleótido para estudiar su ciclorreversión mediante transferencia de electrones. En base a los resultados de los capítulos previos, OG ha sido elegido como un fotorreductor natural. En un primer paso, una metodología ha sido desarrollada para insertar la azetidina dentro de una secuencia de oligonucleótido. Luego, la irradiación en estado estacionario del dúplex que contiene OG y la azetidina ha demostrado que la transferencia de electrones tiene lugar y conlleva a la ciclorreversión del heterociclo. Además, experimentos preliminares han sido llevados a cabo para evaluar la reparación del anillo de cuatro miembros, como un análogo del intermedio generado en el caso del fotoproducto (6-4), por las fotoliasas reales CPD y (6-4).