



**INSTITUTO FEDERAL DO PIAUÍ – IFPI
DIRETORIA DE ENSINO – DEPARTAMENTO DE INFORMAÇÃO, AMBIENTE,
SAÚDE E PRODUÇÃO ALIMENTÍCIA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM RADIOLOGIA
CAMPUS TERESINA CENTRAL**

CARIZY RANNA DE SOUSA AQUINO CORTEZ

**OS MECANISMOS DE REPARO DO DNA FACE À MUTAÇÃO PROPOSTA POR
FATORES ENDÓGENOS E EXÓGENOS: REVISÃO INTEGRATIVA DE
LITERATURA**

**TERESINA
2018**

CARIZY RANNA DE SOUSA AQUINO CORTEZ

OS MECANISMOS DE REPARO DO DNA FACE À MUTAÇÃO PROPOSTA POR
FATORES ENDÓGENOS E EXÓGENOS: REVISÃO INTEGRATIVA DE
LITERATURA

Trabalho de Conclusão de Curso
(monografia) apresentado como exigência parcial
para obtenção do diploma do Curso de Tecnologia
em Radiologia do Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia do Piauí. Campus Teresina
Central.

Orientador: Prof. Ms. Marcelo Cardoso da
Silva Ventura.

TERESINA
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Aquino, Carizy Ranna de Sousa A657m Os mecanismos de reparo do DNA face à mutação proposta por fatores endógenos e exógenos : revisão integrativa de literatura / Carizy Ranna de Sousa Aquino. - 2018. 49 f.: il. p&b.

Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Teresina Central Tecnologia em Radiologia, 2018.

Orientador : Prof Me. Marcelo da Silva Cardoso Ventura.

1. Mecanismo de reparo. 2. Mutações no DNA. 3. Mutação e câncer. I.Título.

CDD - 621.3673

FOLHA DE APROVAÇÃO

CARIZY RANNA DE SOUSA AQUINO CORTEZ

MECANISMOS DE REPARO DO DNA FACE A MUTAÇÃO PROPOSTA POR FATORES ENDÓGENOS E EXÓGENOS: REVISÃO INTEGRATIVA DE LITERATURA

Monografia apresentada ao curso de Tecnologia em Radiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, como requisito para a obtenção de grau de Tecnóloga em Radiologia.

Aprovada em: 23/ 08/ 2018.

BANCA EXAMINADORA

Assinado no original

Me. Marcelo Cardoso da Silva Ventura (Orientador)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI)

Assinado no original

Me. Jâmeson Ferreira da Silva
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI)

Assinado no original

Esp. Jurecir da Silva
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI)

Ao Rei da glória

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela coragem, força e determinação que me foi concedida durante todo o curso. Obrigada SENHOR por ter sido o meu amparo em todos os momentos da minha vida, por ter me guiado nessa trajetória árdua e prazerosa. A Ti, SENHOR, dedico essa vitória.

Agradeço a minha mãe por ser a minha base de sustento e pela confiança depositada em mim! Minha família de modo geral, meu alicerce para todo o sempre, muito obrigada por toda ajuda.

Aos mestres da Radiologia, aos amigos do curso, obrigadas pelos ensinamentos e pelas vivências.

Meu orientador Marcelo Ventura, você foi meu porto seguro nessa reta final de curso. Só tenho a te agradecer por ter me orientado tão bem e ter confiado em mim. A você, meu amor, dedico essa vitória! Uma conquista nossa. Obrigada por estar comigo nos momentos em que eu mais precisei de você!

“O homem não é nada
além daquilo que a Educação faz dele”

Márcio Lima

RESUMO

Introdução. Lesões específicas ao DNA podem induzir mutações que causam o câncer. Diante deste quadro, as células desenvolveram uma rede de mecanismos para remover diferentes tipos de danos que o DNA venha sofrer, sejam eles causados por agentes externos ou mesmo por intermediários do próprio metabolismo celular. Independentemente do tipo de lesão e do mecanismo à disposição para removê-lo, as células iniciam um processo em cascata altamente coordenado – coletivamente conhecido como DDR (do inglês: *DNA Damage Response*), o qual reconhece o dano no DNA, sinaliza a sua presença e medeia seu reparo. **Objetivo.** Este trabalho tem como objetivo analisar como ocorrem os sistemas de reparo do DNA em face de fatores endógenos e exógenos. **Metodologia.** Trata-se de uma revisão integrativa de literatura, que teve como base de dados: LILACS, SCIELO, GOOGLE ACADÊMICO e PUBMED, onde os descritores utilizados foram: mecanismos de reparo, mutações no DNA, mutação e câncer, com publicação entre 2013 a 2018. **Resultado.** Visto que o DNA está exposto diariamente a fatores endógenos e exógenos, principalmente pela radiação ultravioleta, é nítida a relevância dos mecanismos de reparo quando acontece alguma interferência na cadeia do DNA. Dentre os mecanismos estudados, há uma maior atenção ao reparo por excisão de nucleotídeos por ele ser considerado o mais versátil e flexível, reparando um grande número de lesões. **Conclusão.** A reparação precisa dos danos exercidos ao DNA é de suma importância para a integridade do genoma. Caso essas lesões não sejam reparadas, essas mutações podem provocar efeitos genotóxicos severos e induzir a morte celular, ou mesmo resultar na incorporação de alterações no genoma a ser transmitidas para as gerações futuras. Além disso, podem gerar instabilidade genômica e induzir o aparecimento de câncer. **Palavras-Chaves:** Mecanismo de Reparo. Mutações no DNA. Mutação e Câncer.

ABSTRACT

Introduction. DNA-specific lesions can induce mutations that cause cancer. Faced with this picture, the cells have developed a network of mechanisms to remove different types of damage that the DNA will suffer, whether caused by external agents or even by intermediates of the cellular metabolism itself. Regardless of the type of injury and the mechanism available to remove it, the cells initiate a highly coordinated cascade process - collectively known as DNA Damage Response (DDR), which recognizes DNA damage, signals its presence and mediates its repair. **Objective.** This work aims to analyze how DNA repair systems occur in the face of endogenous and exogenous factors. **Methodology.** It is an integrative review of literature, based on LILACS, SCIELO, ACADEMIC GOOGLE and PUBMED, where the descriptors used were: repair mechanisms, mutations in DNA, mutation and cancer, with publication between 2013 to 2018. **Result.** Since DNA is exposed daily to endogenous and exogenous factors, mainly by ultraviolet radiation, the relevance of repair mechanisms is clear when there is any interference in the DNA chain. Among the mechanisms studied, there is a greater attention to nucleotide excision repair because it is considered the most versatile and flexible, repairing a large number of lesions. **Conclusion.** Accurate repair of damage done to DNA is of utmost importance for the integrity of the genome. If these lesions are not repaired, these mutations may cause severe genotoxic effects and induce cell death, or even result in the incorporation of changes in the genome to be transmitted to future generations. In addition, they can generate genomic instability and induce the onset of cancer.

Key words: Mechanism of Repair. Mutations in DNA. Mutation and Cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Radiólise da Água	14
Figura 2: Ilustração dos principais agentes endógenos e exógenos com potencial de danificar DNA, exemplos das lesões causadas e vias diretamente envolvidas com o seu reparo.	16
Figura 3: Tipos de danos ao DNA e mecanismos de reparo.	17
Figura 4: Reparo Direto	19
Figura 5: Representação esquemática das proteínas envolvidas em cada fase do processamento de um malpareamento, desde o seu reconhecimento até a religação do fragmento recém-sintetizado à fita original.	21
Figura 6: Mecanismos de reparo por excisão de bases.	24
Figura 7: Representação esquemática da via de reparo por excisão de nucleotídeos.	27
Figura 8: Recombinação homóloga.	29
Figura 9: Junção de extremidades não homólogas..	30
Figura 10: Faixas da Radiação Ultravioleta e sua penetrância na pele.	37
Figura 11: Desenho esquemático representativo do mecanismo de excisão de base nitrogenada na fita simples de DNA, sem comprometimento de bases subsequentes.	39
Figura 12: Desenho esquemático representativo do mecanismo de excisão de nucleotídeo na fita simples de DNA, com comprometimento de bases subsequentes.	39
Figura 13: Mecanismo de reparo por excisão de bases. A lesão é reconhecida e removida por DNA glicosilase e sofre a ação de uma endonuclease AP. Em seguida, de acordo com o tipo de lesão, o BER é realizado através da via curta ou via longa.	41

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 AGENTES DELETÉRIOS	13
2.2 REPARO DO DANO AO DNA.....	15
2.2.1 Reparo direto.....	17
2.2.2 Reparo por malpareamento.....	19
2.2.3 Reparo por excisão de bases.....	21
2.2.4 Reparo por excisão de nucleotídeos	24
2.2.5 Reparo por quebras duplas.....	27
2.2.6 Recombinação homóloga.....	28
2.2.7 Junção de extremidades não homólogas	29
3 METODOLOGIA	31
3.1 TIPO DE PESQUISA	31
3.2 COLETA DE DADOS	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5 CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

Constantemente as bases nitrogenadas dos nucleotídeos do DNA são expostas aos agentes, naturais ou artificiais, que provocam modificações em sua estrutura ou composição química. A mutação é uma alteração na estrutura do material genético súbito e herdável, podendo levar a uma mudança correspondente no fenótipo do indivíduo (ZAHA; FERREIRA; PASSAGLIA, 2012). Existem dois tipos de mutações, as gênicas e as cromossômicas. A mutação gênica pode ser pontual, onde ocorre alteração de um único par de bases do DNA ou um pequeno número de pares adjacentes. As mutações pontuais podem ser: por substituição, inserção ou deleção de pares de bases; a mutação cromossômica pode ser no número ou na estrutura dos cromossomos. Existem dois tipos de mutação numérica: a euploidia e a aneuploidia (TEXEIRA, 2015).

Atualmente, o câncer é o nome geral dado a um conjunto de mais de 100 doenças, que têm em comum o crescimento desordenado de células, que tendem a invadir tecidos e órgãos vizinhos (INCA, 2011). O câncer é causado primeiramente por modificações genéticas adquiridas por fatores externos. Essas modificações são principalmente mutações no DNA das células somáticas que se propagam por mitose (PRADO, 2014). Dentre os principais tipos de câncer está o câncer de pele. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer de pele é o tipo de câncer mais frequente no mundo (POMPEU et al. 2013).

A molécula de DNA pode ser danificada por vários fatores classificados como endógenos e exógenos. O dano endógeno ao DNA é primariamente causado pelas Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). Os agentes ambientais como a luz ultravioleta, a radiação ionizante e os químicos provocam danos exógenos ao DNA (SOARES et al. 2014).

Lesões específicas ao DNA podem induzir mutações que causam outras doenças além do câncer, assim como contribuem para o processo de envelhecimento. Diante deste quadro, as células desenvolveram uma rede de mecanismos para remover diferentes tipos de danos que o DNA venha sofrer, sejam eles causados por agentes externos ou mesmo por intermediários do próprio metabolismo celular. Independentemente do tipo de lesão e do mecanismo à disposição para removê-lo, as células iniciam um processo em cascata altamente

coordenado – coletivamente conhecido como DDR (do inglês: *DNA Damage Response*), o qual reconhece o dano no DNA, sinaliza a sua presença e medeia seu reparo (ZHOU e ELLEDGE, 2000; HOEIJMAKERS, 2009; MENCK e MUNFORD, 2014).

Embora atualmente seja conhecida e dispersada na literatura especializada a informação de que todo câncer emana de alterações na molécula de DNA, é também exposto que tais alterações são manifestadas como processos cancerígenos por fatores indutores externos (LUTZ, 2017).

Os sistemas de defesa antioxidante e as múltiplas vias de reparo ao DNA envolvem a proteção celular de estresse oxidativo e de agentes que provocam danos à molécula. Esses danos devem ser imediatamente reconhecidos e corrigidos a fim de evitar erros sequenciais e cumulativos (SOARES et al. 2014).

O objetivo desse trabalho foi analisar, através da literatura brasileira, como ocorre a atuação dos sistemas de reparo do DNA tendo a radiação UV como fator estimulante para desenvolver mutações na molécula, descrevendo a atuação da radiação solar sobre as bases nitrogenadas do DNA, explanando o sistema de reparo, bem como apresentar os fatores exógenos causadores alterações na molécula de DNA.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

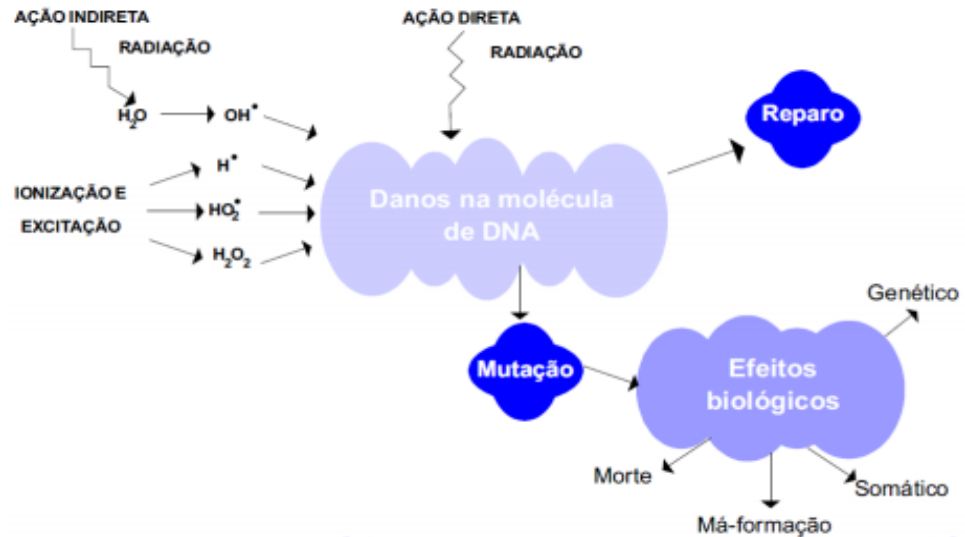
2.1 Agentes deletérios

Diferentes tipos de radiações e vários compostos químicos podem acarretar danos ao DNA. Radiações que possuem comprimentos de onda inferiores a 400nm podem causar dano indiretamente ou diretamente ao DNA. Estas ondas podem ser agrupadas em ionizantes e não ionizantes, dependendo do grau de energia (BECK et al. 2013).

Os raios-X e os raios gama são exemplos de radiações ionizantes capazes de penetrar facilmente nos tecidos celulares. Ao atravessar a matéria orgânica, essas radiações colidem com átomos, liberam os elétrons das moléculas e dão origem a radicais livres (átomos ou moléculas que contem um ou mais elétrons não pareados) e íons reativos. Esses compostos apresentam a capacidade de ocasionar alterações estruturais em outros componentes celulares, em particular no código genético (ALIZADEH & SANCHE, 2013). Os principais efeitos das radiações ionizantes no DNA são danos nos anéis de purinas e pirimidinas, perda de bases nitrogenadas ou quebra de uma ou ambas as fitas de DNA (KAUR et al. 2015).

As radiações não ionizantes não apresentam energia suficiente para promover a liberação de elétrons e seu poder de penetração celular é reduzido em seres pluricelulares. No entanto, apresentam poder deletério à molécula de DNA, principalmente por atuarem na radiólise da água, o que gera os radicais hidroxila extremamente reativos (OH) (KAUR et al. 2015). Pode-se então dizer que a radiação tem a capacidade de ionizar a molécula da água, transformando-a em diversas espécies iônicas e radicais como demonstrada na figura 1. As espécies iônicas formadas são instáveis e altamente reativas com as moléculas que constituem a célula (GOMES, 2005).

Figura 1: Radiólise da água



Fonte: NOUAILHETAS (2003)

Os raios ultravioletas (UV) são capazes de afetar indiretamente o DNA, ocasionando quebras na estrutura molecular ou provocando alterações de bases nitrogenadas. Os fotoprodutos mais comuns da excitação de pirimidinas originados pela radiação UV, são os hidratos de pirimidinas e os dímeros formados de pirimidinas adjacentes. Dentre essas possíveis alterações, os dímeros formados entre adeninas adjacentes apresentam maior implicação mutagênica, impedindo o emparelhamento de bases nitrogenadas subsequentes, perturbando assim a estrutura das duplas hélices, o que interfere na precisão da duplicação do DNA (PRICE et al. 2014).

Na década de 1960, pensou-se que grande parte dos cânceres nos humanos era causada por vírus. No entanto, investigações cuidadosas mostraram que cerca de 15% dos cânceres humanos são induzidos por vírus, oncovírus. Na figura abaixo, são mostrados alguns exemplos (PRADO, 2014).

Relação entre cânceres e agentes virais (oncovírus)

TIPO DE CÂNCER	VÍRUS RELACIONADOS
Câncer de fígado	Vírus da Hepatite B
Linfoma, câncer do	Vírus Epstein-barr
nasofaringe	Vírus da leucemia de células T humana
Leucemia de células T	(HTLV-I)
Cânceres anogenitais	Papilomavírus
Sarcoma de Kaposi	Herpesvírus do sarcoma de Kaposi

Fonte: Prado(2014)

2.2 Reparo do dano ao DNA

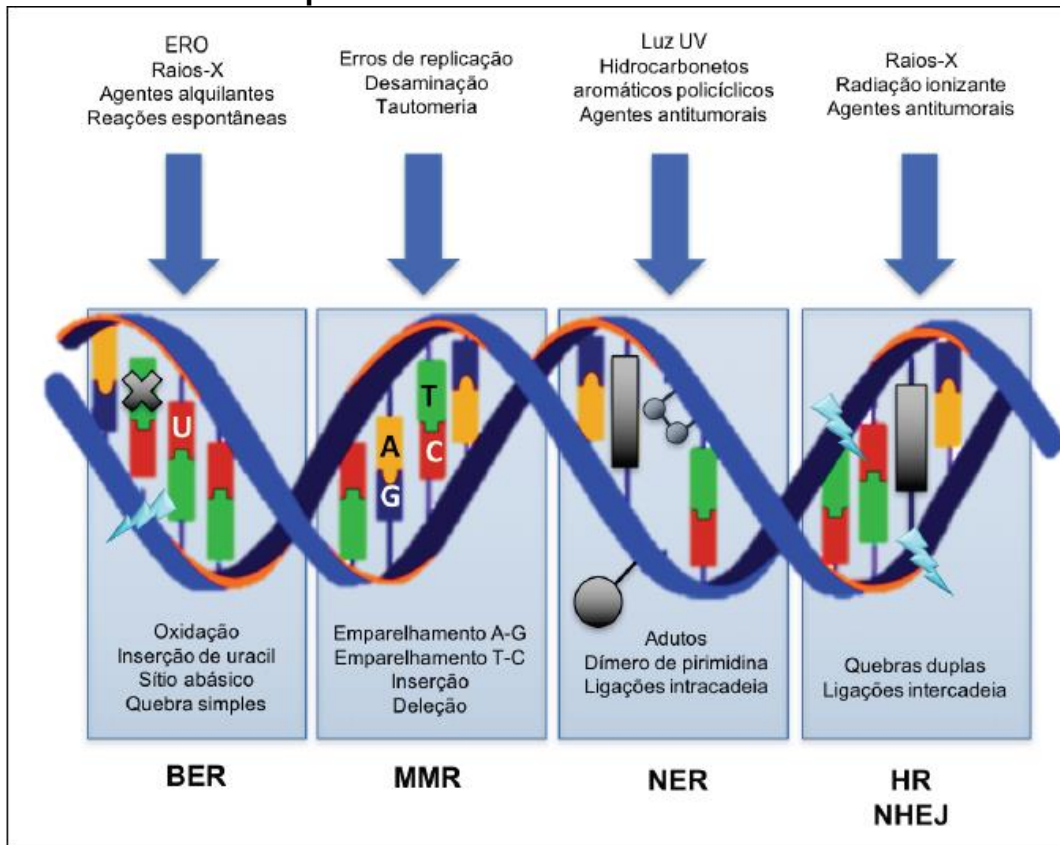
Alterações na estrutura do DNA podem ser causadas por agentes intrínsecos derivados do metabolismo ou por agentes extrínsecos, como exposições tóxicas agudas e exposições ambientais crônicas (BONT e LAREBEKE, 2004; KINSELLA, 2009). Por este motivo, durante o ciclo celular pontos de verificação (*checkpoints*) antes da divisão e distribuição do material genômico das células mitóticas para as células filhas (REINHARD e YAFFE, 2013). Quando algum erro é detectado, há uma pausa na replicação para que ocorra o reparo do DNA ou para que haja a indução de morte celular (REINHARDT e SCHUMACHER, 2012).

O reparo dos danos ao DNA constitui um importante enfoque de estudo, visto que a sua perpetuação em células tumorais faz parte do conjunto de eventos que determina a evolução do câncer, bem como sua resposta ao tratamento (ROOS et al. 2016).

De modo geral, as vias de reparo de DNA podem atuar por meio da reversão direta do dano no DNA ou a partir da excisão completa dessa lesão (Figura 2). Didaticamente, estas vias estão divididas em: reparo de mal pareamento (**MMR, do inglês: Mismatch Repair**), reparo por excisão de bases (**BER, do inglês: Base Excision Repair**) e nucleotídeos (**NER, do inglês: Nucleotide Excision Repair**), reparo por recombinação homóloga (**HR, do inglês: Homologous Recombination**) e junção de extremidades não-homólogas (**NHEJ, do inglês: Non-Homologous End Joining**), além da via translesão ou mutagênica (**TLS, do inglês: Translesion Synthesis**). Embora estas vias sejam apresentadas de forma individualizada, cada

vez mais evidências apontam para o *crosstalk* e a sobreposição entre elas no processamento de lesões ao DNA (FU et al. 2012; MALAQUIN et al. 2015; HAYNES et al. 2016; MICHL et al. 2016; SIMONELLI et al. 2016).

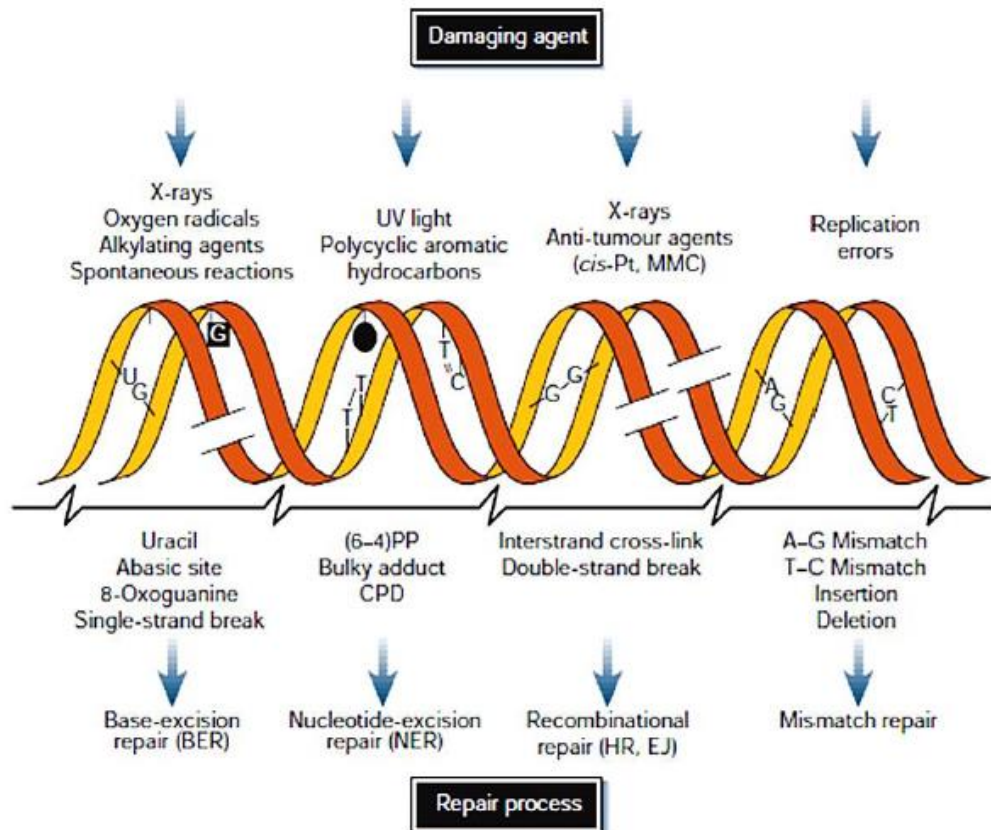
Figura 2: Ilustração dos principais agentes endógenos e exógenos com potencial de danificar DNA, exemplos das lesões causadas e vias diretamente envolvidas com o seu reparo.



Fonte: Adaptado de Hoeijmakers et al. 2001 e Iyama e Wilson III, 2014

Alterações nessas vias têm sido associadas ao risco do câncer (SANTIVASI & XIA, 2013), síndromes relacionadas a câncer (CHRISTMANN et al. 2003) e maior ou menor sensibilidade a agentes quimioterápicos (HEGI et al. 2005, BOBOLA et al. 2012). Essas vias apresentam muitas proteínas em comum, ou seja, uma determinada proteína pode desempenhar funções em mais de uma via de reparo e os mecanismos são geralmente sobrepostos para garantir a manutenção da estabilidade do genoma. Além disso, cada uma dessas vias é responsável pela correção de danos específicos que podem ocorrer espontaneamente ou por meio de indução pela ação de agentes químicos ou físicos (HOEIJMAKERS, 2001) (Figura 3).

Figura 3: Tipos de danos ao DNA e mecanismos de reparo.



Fonte: Adaptado de Hoeijmakers et al. (2001)

2.2.1 Reparo Direto

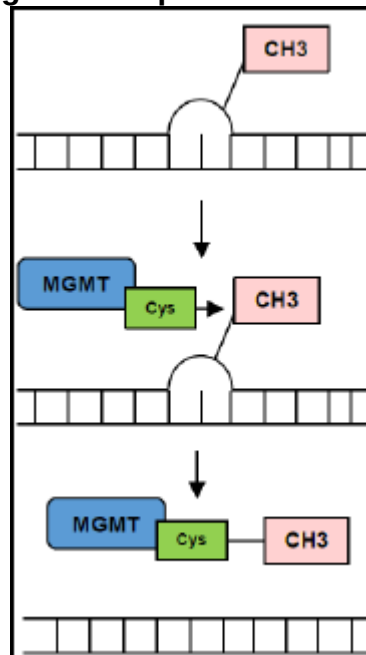
O reparo direto (DR) é assim denominado, pois ocorre em uma reação rápida e livre de erros nos quais, em células de mamíferos, a lesão que pode ser causada pela alquilação de bases, é revertida devido a um único passo. Este mecanismo não utiliza nucleotídeo molde, não rompe a estrutura fosfodiéster e não requer síntese de DNA (NAY e O'CONNOR, 2013). De acordo com o tipo de lesão, podem ser recrutadas duas principais enzimas: (1) família ALKBH, que catalisa a reversão direta de certas lesões N-alquil (1meA e 3meC) através de uma reação de desalquilação oxidante única ou (2) O⁶-metilguanina-DNA-metiltransferase (MGMT), que remove grupos O⁶-metil de O⁶-metilguanina (O⁶meG) (FU, CALVO e SAMSON, 2012).

O gene MGMT (10q26) codifica uma enzima de reparo com o mesmo nome que é responsável por remover adutos de metil de O⁶-guanina (figura 4). A enzima MGMT é responsável pelo reparo direto das lesões pela transferência do grupo

alquil do oxigênio da base danificada para um resíduo de cisteína no grupo catalítico da MGMT, restaurando a base nitrogenada e inativando a enzima, a qual será degradada pelo sistema ubiquitina-proteossom (XUWELLIVER e PEGG, 2002; ALTIERI et al. 2008).

A transcrição do gene MGMT é regulada por mecanismos epigenéticos (Epigenética é o estudo de mudanças mitogenéticas e/ou hereditárias na função genética que não podem ser explicadas por mudanças na sequência do DNA, sendo eles a metilação do DNA, a modificação de histonas e o RNA não codificante). A metilação nos nucleotídeos CpG na região do promotor resulta em silenciamento gênico, perda de expressão e incapacidade de remoção dos grupos alquil da guanina (BAYLIN e OHM, 2006).

Quando o grupo metil não é removido, O⁶-methilguanina acaba sendo reconhecida como adenina, tornando-se incapaz de parear com a timina durante a replicação do DNA. A consequência é a formação de um polimorfismo de nucleotídeo simples do tipo transição (SVRCEK et al. 2010).

Figura 4: Reparo Direto

Fonte: Adaptado de Fu, Calvo e Simon (2012)

2.2.2 Reparo por Malpareamento (MMR)

O sistema MMR, reparo de malpareamento ou reparo de emparelhamento errôneo, possui um papel essencial no reparo pós-replicativo dos *loops* de inserções e deleções ou, ainda, incorporações errôneas de nucleotídeos que escaparam da atividade de revisão das polimerases replicativas. O MMR é uma via altamente conservada ao longo da evolução, de *E.coli* a humanos. A sua significância é corroborada pelo fato de que células deficientes em MMR apresentam fenótipo com elevado grau mutagênico, que é caracterizado invariavelmente pela presença de instabilidade de microssatélites. Mais importante ainda é o fato de que mutações em genes do MMR em células germinativas são predispostas a uma variedade de neoplasias, incluindo o câncer colorretal hereditário não-polipose, também conhecido como síndrome de Lynch (dois critérios que ajudam no diagnóstico dessa doença são: ter câncer no intestino antes dos 50 anos, histórico familiar de câncer no intestino em jovens) e outros tumores hereditários e esporádicos. (LI, 2008; FUKUI, 2010).

O papel principal desta via, portanto, é a retificação dos erros de inserção e deleção durante a replicação do DNA e a garantia da fidelidade da informação genética durante a recombinação ou, ainda, participando do mecanismo que

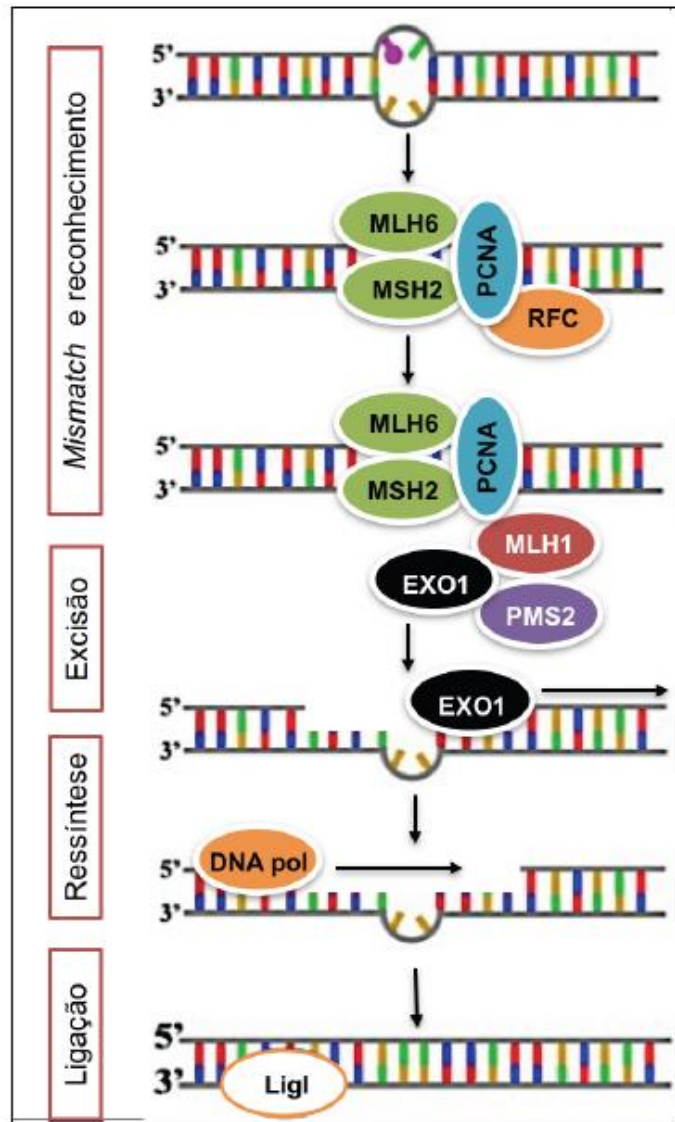
desencadeia a apoptose em células cujo DNA esteja danificado (DA SILVA et al. 2009).

O MMR canônico é composto por dois complexos proteicos: (1) MutS, que incluem MSH2 (do inglês: *MutS homolog 2*), MSH3 (do inglês: *MutS homolog 3*) e MSH6 (do inglês: *MutS homolog 6*); (2) MutL, que engloba MLH1 (do inglês: *MutL homolog 1*), PMS1 (do inglês: *Post Meiotic Segregation Increased 1*), PMS2 (do inglês: *Post Meiotic Segregation Increased 2*) e MLH3 (do inglês: *MutL homolog 3*). Para o funcionamento do sistema MMR é necessário que o complexo proteico MutL se ligue a MutS- α (MSH2 e MSH6) ou MutS- β (MSH2 e MSH3) (MEIRELLES, 2016).

O MMR pode ser dividido em três principais etapas (Figura 5): (1) reconhecimento da base malpareada, feito pelos heterodímeros de MutS, MutS α (MSH2- MSH6) ou MutS (MSH2-MSH3); MutS α geralmente reconhece emparelhamentos errôneos e deleções/inserções pequenas (até 2 nucleotídeos), enquanto MutS reconhece principalmente bolhas formadas por deleções/inserções maiores; (2) excisão da porção da fita contendo o erro

(o que gera uma lacuna), a qual é feita pelo heterodímero MutL α (principalmente MLH1- PMS1), com a participação das proteínas PCNA (do inglês: *Proliferating Cell Nuclear Antigen*) e RFC (do inglês: *Replication Factor C*). O flap resultante da incisão é removido pela ação das enzimas RPA e Exo1; a DNA polimerase é responsável pela ressíntese do DNA com base na fita molde; (3) e religação da extremidade recém-sintetizada e da fita original, feita por uma DNA ligase (HSIEH e YAMANE, 2008).

Figura 5: Representação esquemática das proteínas envolvidas em cada fase do processamento de um malpareamento, desde o seu reconhecimento até a religação do fragmento recém-sintetizado à fita original.



Fonte: Adaptado de Helleday et al (2014)

2.2.3 Reparo por excisão de bases (BER)

Quebras simples (*single-stranded breaks*, SSB) e pequenas modificações no DNA que não distorcem a dupla hélice são reparadas por meio do reparo por excisão de bases (BER) (SHARMA e DIANOV, 2007). A maioria das alterações de uma única base é causada pelo próprio metabolismo celular, embora também possa ser provocada por produtos químicos ambientais, tratamento com produtos citostáticos ou radiação ionizante. A instabilidade no DNA que leva a alquilação,

oxidação, redução ou fragmentação de bases gera produtos como incorporação de uracila, pirimidinas fragmentadas, purinas N-alquiladas (7-metilguanina, 3-metiladenina, 3-metilguanina), 8-oxo-7,8dihidroguanina (8-OxoG) e timina glicol (CHRISTMANN et al. 2003).

O BER é um processo multienzimático que, de maneira geral, requer quatro principais enzimas: uma DNA glicosilase, uma AP endonuclease ou AP DNA liase, uma DNA polimerase e uma DNA ligase (Figura 6) (ROBERTSON et al. 2009). Na etapa inicial do reparo, as DNA glicosilases são responsáveis por reconhecer e remover o dano ou a base incorreta gerando um sítio abásico (sítio AP) (KROKAN e BJORA, 2013).

Atualmente, são reconhecidas 11 DNA glicosilases em células de mamíferos, caracterizadas por diferentes modos de ação (Dianov e Hubscher, 2013). De acordo com o mecanismo catalítico, tais enzimas são classificadas como monofuncionais, pois removem as bases modificadas deixando um sítio AP no DNA (ex.: UNG, *uracil-DNA glycosylase*) ou como glicosilases bifuncionais, que removem a base e subsequentemente clivam o sítio AP (ex: OGG1, *8 Oxoguanine glycosylase*) (JACOBS e SCHAR, 2012).

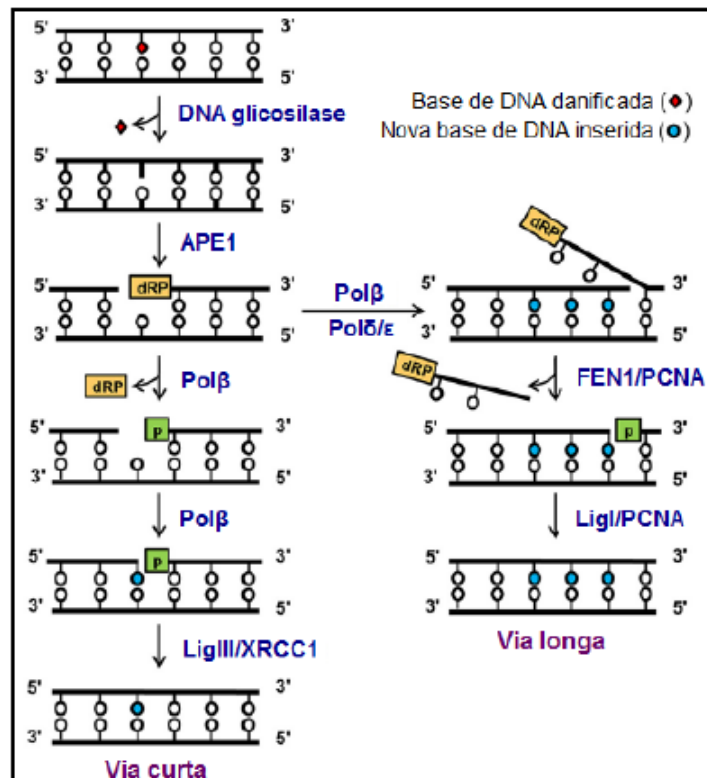
APE1 (*Apurinic/aprimidinic endonuclease 1*), portanto, reconhece e cliva o esqueleto fosfodiéster em 5' do sítio AP, criando uma quebra simples flanqueada por uma terminação 3'-OH e um grupamento 5'-desoxirribose fosfato (5'-dRP). De maneira alternativa, algumas DNA glicosilases bifuncionais (OGG1 e NTH1, *endonuclease III homologue*) também podem contribuir com a incisão do esqueleto de DNA a partir da reação de β -eliminação, criando uma lacuna de nucleotídeo único, flanqueado por 5'-fosfato e 3'- α,β -aldeído insaturado. A partir disso, APE1, além de sua atividade endonuclease principal, auxilia na remoção do 3'- α,β -aldeído insaturado, restaurando a extremidade 3'-OH (CARTER e PARSONS, 2016).

A partir deste momento o BER pode seguir duas vias distintas: via curta (SP-BER, *short-patch BER*), que repara apenas uma base ou via longa (LP-BER, *long-patch BER*), responsável pelo reparo de duas a oito bases. Os mecanismos pelos quais o direcionamento para uma ou outra via ocorrem ainda não foram totalmente elucidados. Acredita-se que a decisão pode ser dependente da disponibilidade de ATP na proximidade do sítio AP ou do tipo de intermediário que é gerado após a incisão (ROBERTSON et al. 2009).

Na via curta, Pol β (DNA *polymerase* β) corrige o erro inserindo a nova base de maneira simultânea com a remoção de 5'-dRP. Em seguida, a ligação é feita por meio da interação entre DNA ligase III com XRCC1 (*X-ray repair cross-complementing protein 1*) e PARP1 [*poly(ADP-ribose) polymerase-1*]. Já na via longa, a inserção dos novos nucleotídeos ocorre através da ação das polimerases β , δ ou ϵ (Pol ϵ , DNA *polymerase* ϵ) em conjunto com PCNA e RFC. Por fim, a remoção de 5'-dRP é realizada pela enzima FEN1 (*Flap structure-specific endonuclease 1*) e a ligase I promove a ligação da nova fita, ambas com o auxílio de PCNA (CHRISTMANN, et al. 2003; CARTER e PARSONS, 2016).

Alterações na expressão de DNA glicosilases têm sido identificadas em doenças neurodegenerativas, como a diminuição de APE1 em pacientes com esclerose lateral amiotrófica e o aumento de OGG1 na substância negra de pacientes com Parkinson (MAYNARD et al. 2009). Mutações e polimorfismos em Pol β , OGG1 e XRCC1 são associados ao risco de desenvolvimento de câncer de próstata (ALTIERI et al. 2008).

Figura 6: Mecanismos de reparo por excisão de bases.



Fonte: Adaptado de Carter e Parsons (2016)

2.2.4 Reparo por excisão de nucleotídeos (NER)

O NER é a via responsável por reparar danos que modifiquem a estrutura do DNA de forma significativa, ou seja, promovendo sua distorção que impossibilite o pareamento correto das fitas. Estas modificações, por sua magnitude, são enquadradas como danos mutagênicos e citotóxicos. Classicamente, o NER está envolvido com o reparo de fotoprodutos causados pela luz UV (CPDs e 6,4-PPs), mas sua ação é muito mais ampla, visto que se envolve no reparo de adutos oriundos da ação de vários agentes químicos, desde fumaça de cigarro, passando pelas aflatoxinas e, obviamente, quimioterápicos, especialmente aqueles derivados da platina e as nitrosureias. O NER, ainda, pode estar envolvido no reparo de bases oxidadas e *crosslinks*,

embora estes mecanismos ainda não tenham sido completamente elucidados (CURTIN, 2012; SPIVAK e GANESAN, 2014).

Em linhas gerais, o NER também é um mecanismo que atua pela função coordenada e sequencial de cerca de 30 proteínas, incluindo helicases e endonucleases, as quais, assim como no BER, reconhecem a lesão, abrem a dupla

hélice e removem o fragmento que contém o dano e, finalmente, resintetizam e religam a simples fita processada (STARESINCIC et al. 2009).

O mecanismo de excisão de nucleotídeos apresenta uma subdivisão da sua via de acordo com a lesão reconhecida e com as proteínas envolvidas no seu reparo (Figura 7). Aqui, referimo-nos ao Reparo do Genoma Global (GGR, do inglês: *Global Genome Repair*) e ao Reparo acoplado à Transcrição (TCR, do inglês: *Transcription Coupled Repair*) (VOLKER et al. 2001; HANAWALT e SPIVAK, 2008; CLEAVER et al. 2009).

O primeiro, GGR-NER, é aquele restrito ao reparo de lesões em regiões não transcritas do genoma, assim como nas fitas não transcritas dos genes ativos, sendo o reconhecimento feito pelo complexo XPC (do inglês: *Xeroderma Pigmentosum Complementation Group C*), hHR23B e centrin- 2. XPC liga-fortemente ao DNA danificado, sendo considerada, portanto, o principal sensor de dano a esta molécula (KUPER e KISKER, 2012). O desencadeamento desta sub-via é dependente tanto da configuração da cromatina como da própria atividade das proteínas em reconhecer as lesões, fatores estes que são considerados limitantes da velocidade com que o reparo nesta via ocorre (ALTIERI et al. 2008).

A segunda sub-via, TCR-NER, reconhece, por sua vez, danos que causam distorções nas regiões ativas da cromatina devido ao bloqueio da RNA polimerase II, reparando-as de forma mais eficiente e envolve as proteínas CSA e CSB (do inglês: *Cockayne Syndrome Complementation Group A e B*) (HANAWALT e SPIVAK, 2008; SCHÄRER, 2013). Desta forma, o desencadeamento desta sub-via do NER depende apenas da parada da função da RNA polimerase. A proteína CSB – principal regulador da TCR-NER - interage fracamente com a RNA polimerase e estimula a transcrição, ligação que se torna mais forte quando a transcrição é interrompida. Para sua estabilização, CSB recruta então CSA para o interior da matriz nuclear após o dano no DNA. Juntas, elas recrutam as proteínas HMGN1 (do inglês: *High Mobility Group Nucleosome Binding Domain 1*), XAB2 (do inglês: *Xeroderma Pigmentosum Complementation Group A Binding Protein 2*) e TFIIS para o local do dano (HANAWALT e SPIVAK, 2008; SPIVAK e GANESAN, 2014).

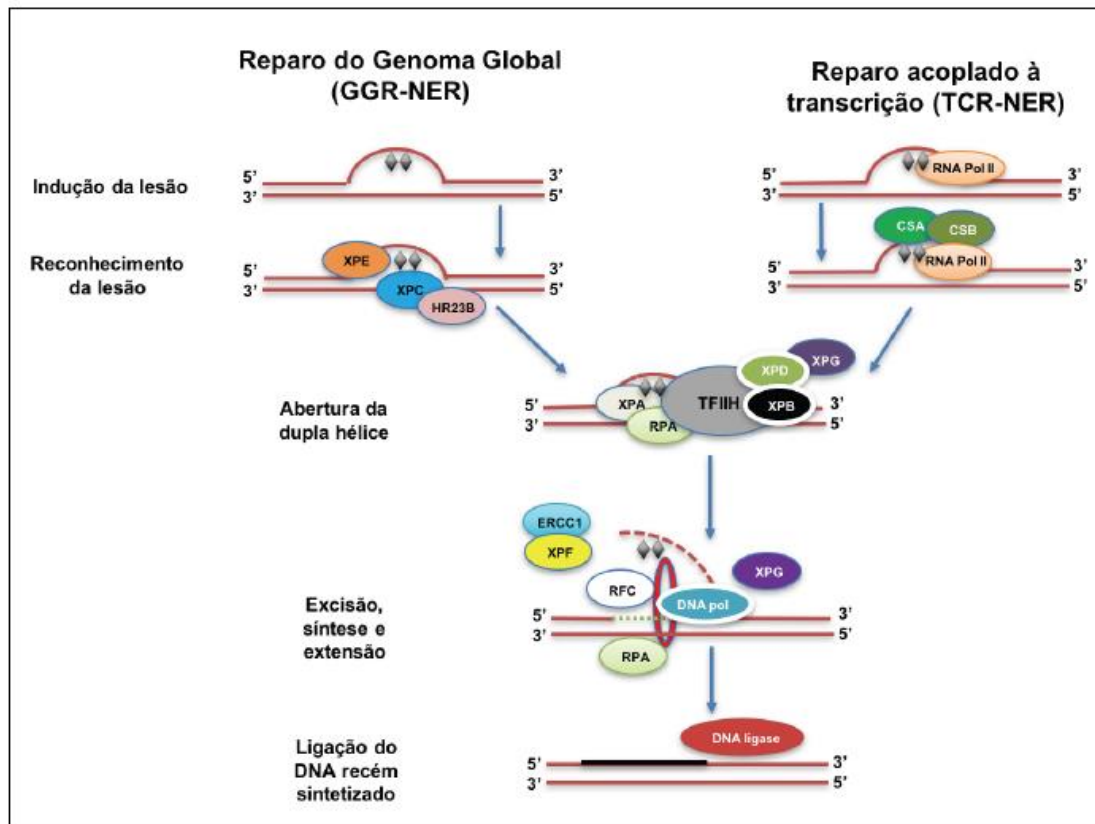
Após o reconhecimento da lesão, GGR e TCR converge para uma via em comum, momento em que ocorrerá a montagem de um complexo para nova verificação da presença do dano e preparo do local, com o recrutamento dos fatores

TFIIH, XPA, RPA e XPG/ERCC5. XPA e RPA não apenas atuam no reconhecimento da lesão, como também ajudam na proteção do fragmento da fita simples de DNA e na estabilização do complexo como um todo (MEIRELLES, 2016).

As proteínas XPB/ERCC3 (helicase 3'-5' dependente de ATP) e XPD/ERCC2 (helicase 5'-3' dependente de ATP) (do inglês: *Xeroderma Pigmentosum Complementation Group B e D*) são as helicases responsáveis pela abertura da dupla hélice ao redor da lesão. Quanto à XPB e XPD, é importante salientar que a abertura da lesão somente ocorre porque elas atuam em sentido contrário, complementando sua função mutuamente. (SCHÄRER, 2013).

A próxima etapa consiste na incisão da cadeia através da ação coordenada das endonucleases XPG e XPF-ERCC1, ambas responsáveis pelas incisões 3' e 5', respectivamente. XPF contém o domínio catalítico de nuclease, enquanto ERCC1 é necessária para a interação com XPA e outras proteínas de NER. XPC, XPA e TFIIH são liberados do complexo de reparo logo após a incisão a 5'. Subsequentemente, ocorre o recrutamento das proteínas RFC e PCNA na extremidade 3', o que leva à liberação da nuclease e ao início da replicação do novo fragmento de DNA (ou síntese de DNA pós-reparo), utilizando a fita intacta como molde. A ressíntese ocorrerá pela ação das DNA polimerases (DNA Pol δ , ϵ e/ou κ), após o que a ligação dos fragmentos deve ser realizada pelas DNA ligases I ou XRCC1-DNA ligase III. (TSODIKOV et al. 2007; HANAWALT e SPIVAK, 2008; SCHÄRER, 2013; MARTEIJIN et al. 2014).

Figura 7: Representação esquemática da via de reparo por excisão de nucleotídeos



Fonte: Adaptado de Iyama e Wilson III (2013)

2.2.5 Reparo de quebras duplas

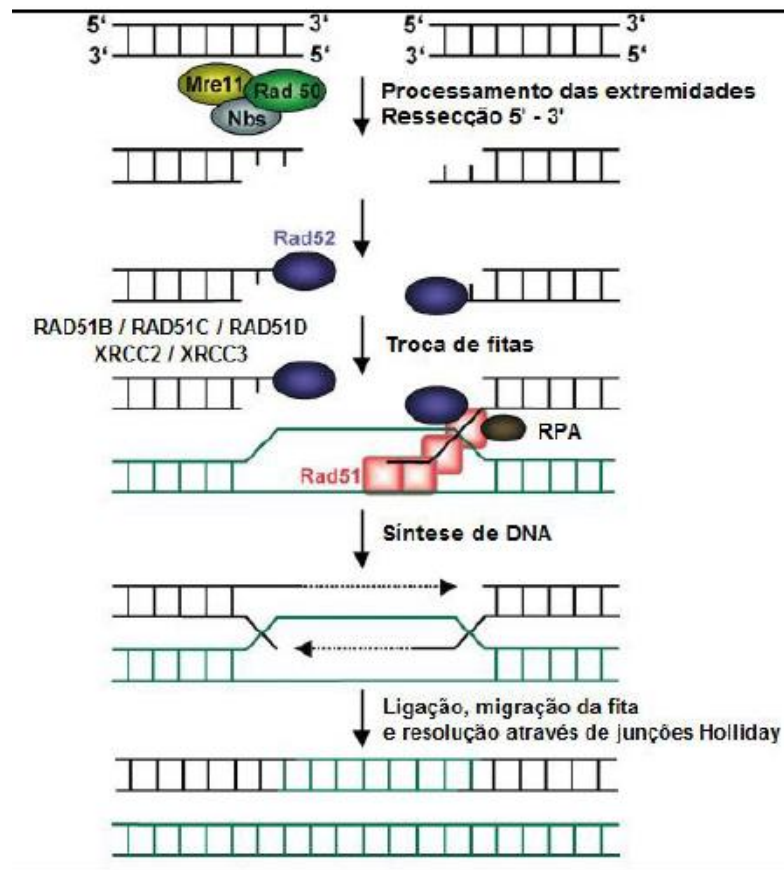
Quebras duplas no DNA (*double-stranded breaks*, DSB) são lesões altamente citotóxicas e podem levar a aneuploidia, aberrações genéticas e morte celular (KREJCI et al. 2012). Esses danos podem ocorrer naturalmente enquanto topoisomerasas desenrolam o DNA ou serem induzidos por radiação ionizante ou quimioterápicos (HELLEDAY et al. 2008). As duas vias responsáveis por realizar o reparo das DSBs são a recombinação homóloga (HR) e a junção de extremidades não-homólogas (NHEJ). Ao contrário da HR, NHEJ é passível de erros (*error prone*), e constitui a principal forma de reparo de DSBs em células de mamíferos. Além disso, enquanto HR ocorre principalmente durante o processo de replicação, nas fases S tardias e G2 do ciclo celular, NHEJ é predominante nas fases G0/G1 (LORD e ASHWORTH, 2012).

2.2.6 Recombinação homóloga

A recombinação homóloga (HR) envolve um cromossomo danificado e uma molécula de DNA íntegra que é utilizada como molde para o reparo (RENKAWITZ, LADEMANN e JENTSCH, 2014). O reconhecimento da lesão inicia-se com a ligação do complexo MRE11-RAD50-NBS1 nas extremidades quebradas do DNA (STRACKER e PETRINI, 2011). A subunidade portadora da atividade nuclease, MRE11, se liga a proteína CtIP (*CtBP-interacting protein*) iniciando a ressecção da extremidade 5". Durante esse processo, a formação da simples fita de DNA (ssDNA, *single-stranded DNA*) continua através da ação de Exo1 em conjunto com o complexo BLM-TopoIII α -RMI1/RMI2 (BTR)-DNA2, que possui atividade helicase-endonuclease (SYMINGTON e GAUTIER, 2011).

Em seguida, RPA atua protegendo a ssDNA da formação de estruturas secundárias para que haja a incorporação correta de filamentos RAD51 (*DNA repair protein RAD51 homolog 1*) mediada por BRCA2 (*Breast cancer 2*) e RAD52 (*DNA repair protein RAD52 homolog*) ou por proteínas homólogas a RAD51, como RAD51B (*RAD51 paralog B*), RAD51C (*RAD51 paralog C*), RAD51D (*RAD51 paralog D*), XRCC2 (*X-ray repair cross complementing 2*) e XRCC3 (*X-ray repair cross complementing 3*) (HEYER, EHMTSEN e LIU, 2010).

RAD51 é responsável pela formação de um filamento pré sináptico de nucleoproteína na ssDNA que parecia com um duplex homólogo não danificado encontrado durante o processo de pesquisa de homologia (FORGET e KOWALCZYKOWSKI, 2010). Há, portanto, a invasão da cadeia de DNA não danificada gerando um *loop* de deslocamento (*D-loop*) e o início da síntese de DNA a partir da extremidade 3' (HEYER, EHMTSEN e LIU, 2010). Por fim, a segunda extremidade de DSB alinha-se com o *D-loop* estendido e as estruturas resultantes são resolvidas de acordo com o modelo clássico de Holliday (CHRISTMANN, et al., 2003). Um modelo esquemático simplificado da via HR pode ser observado na Figura 8.

Figura 8: Recombinação homóloga.

Fonte: Christmann et al (2003)

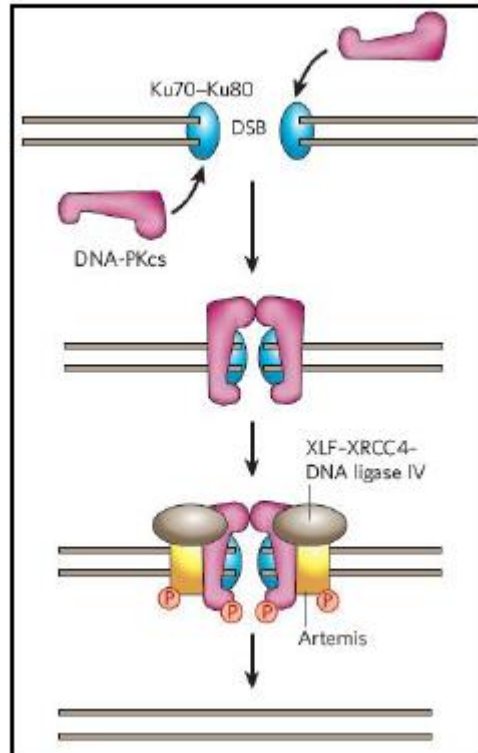
2.2.7 Junção de extremidades não homólogas

O sistema de junção de extremidades não-homólogas (NHEJ) liga as duas extremidades da DSB sem buscar homologia com sequências conservadas de DNA (Figura 9). Como consequência, este processo pode causar deleções ou mutações no local ou ao redor da DSB (LORD e ASHWORTH, 2012).

Na primeira etapa da via NHEJ, as proteínas KU70 e KU80 reconhecem e protegem a fita contendo o dano. Há, então, o recrutamento e associação da subunidade catalítica da DNA-PK (*DNA-dependent protein kinase*) com o complexo de XRCC4 (*X-Ray repair cross complementing 4*) e LIG4 (*DNA ligase IV*). A ligação das duas extremidades através de XRCC4/LIG4 ocorre após as DSBs terem sido processadas pelo complexo MRE11-Rad50-NBS1, que remove o excesso de *flaps* (estruturas em aba) 5' e 3'. Em adição, a obtenção da atividade exonuclease específica de cadeia simples pela DNA-PK, ocorre pela união com a proteína

Artemis. Através deste complexo, Artemis é fosforilado e passa a atuar como uma endonuclease (LUTZ,2017).

Figura 9: Junção de extremidades não homólogas.



Fonte: Adaptado de Downs, Nussenzweig e Nussenzweig (2007)

3 METODOLOGIA

3.1 Tipo de Pesquisa

Trata-se de um estudo de revisão de literatura do tipo integrativa. De acordo com SOUSA, SILVA e CARVALHO (2010), a revisão integrativa é a mais ampla abordagem metodológica referente às revisões, permitindo a inclusão de estudos experimentais e não experimentais para a compreensão completa do fenômeno analisado

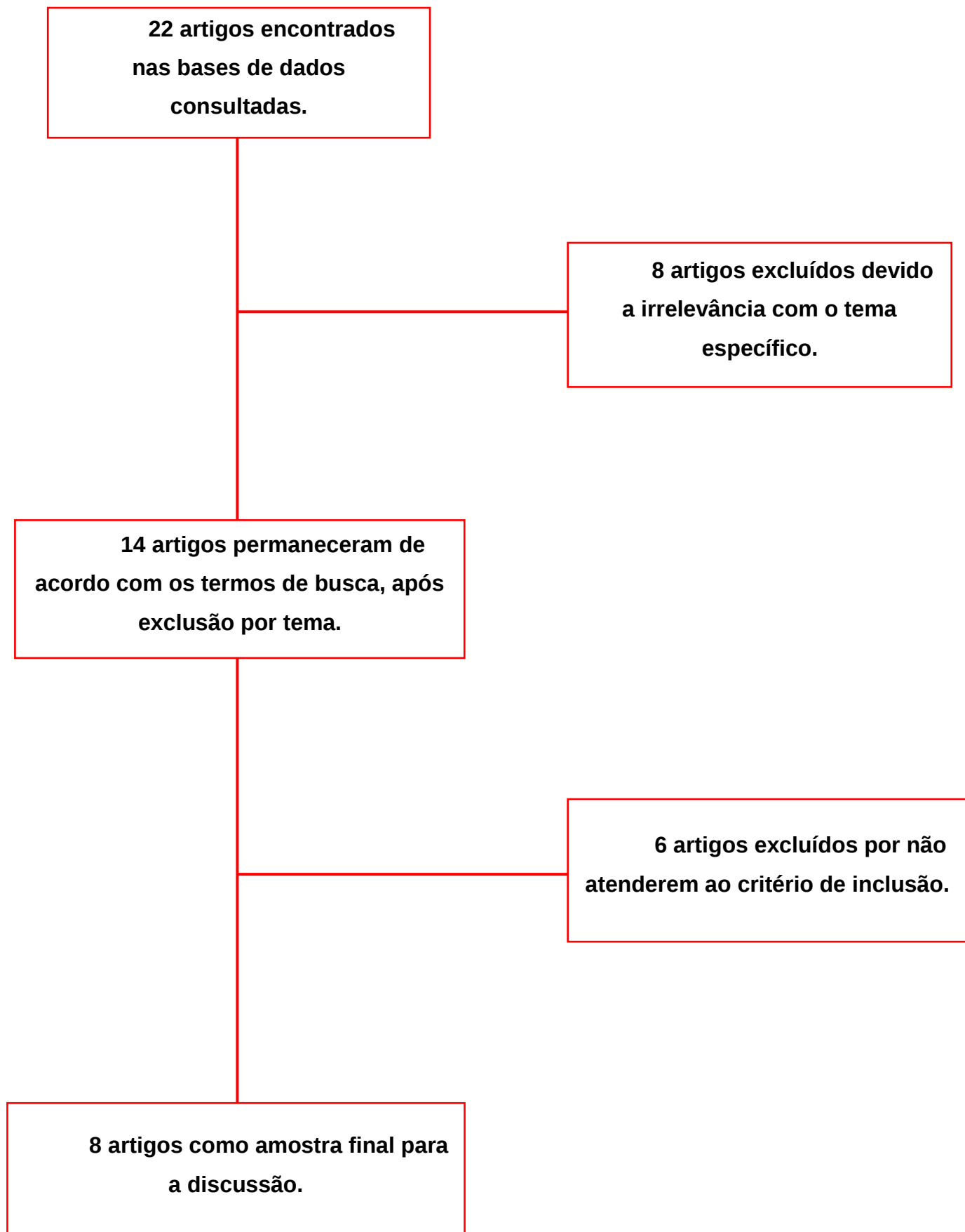
3.2 Coleta de Dados

Para a seleção dos artigos foram utilizadas quatro bases de dados, a saber: LILACS, SCIELO, GOOGLE ACADÊMICO, PUBMED. Os critérios de inclusão dos artigos definidos inicialmente foram: artigos publicados em português e inglês com os resumos disponíveis nas bases de dados selecionadas, no período compreendido entre 2013 a 2018. Para guiar a revisão integrativa, formulou-se a seguinte questão: quais os principais tipos de mecanismos de reparo do DNA e como eles agem quando são expostos a fatores mutagênicos?

Foram excluídos da pesquisa publicações cujos objetivos não possuísem ligação direta com a temática ou que fugissem do objeto de estudo, e publicações que estivessem fora do prazo compreendido entre 2013 a 2018.

Os descritores utilizados para a pesquisa foram: mecanismo de reparo, mutações no DNA, mutação e câncer.

Os artigos selecionados foram analisados e lidos na íntegra com base em roteiro que considerou as seguintes características do estudo: autor e ano, metodologia e resultados. O processo de seleção de estudos originou o seguinte fluxograma:



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na presente revisão integrativa, analisou-se oito artigos que atenderam aos critérios de inclusão previamente estabelecidos e, a seguir, apresentar-se-á um panorama geral dos artigos avaliados.

Para melhor análise, estruturação e discussão dos trabalhos utilizados neste estudo, os artigos foram organizados por nome dos autores, ano de publicação, metodologia utilizada e resultados obtidos. O quadro 1 apresenta detalhes sobre esses estudos.

Quadro 1 – Apresentação da síntese de artigos incluídos na revisão integrativa

AUTORES (ANO)	METODOLOGIA	RESULTADOS
LIMA, 2015	Revisão sistemática de 90 artigos sobre resposta a danos no DNA após exposição à luz ultravioleta.	O dano causado no DNA pela radiação UV acarreta bloqueio físico de replicação e de transcrição. A eficiência das vias de remoção do dano é maior na região de genes ativos. Deficiências nessas vias aumentam a taxa de mutações induzidas por luz UV e consequentemente de tumores de pele, evidenciadas pelas síndromes como Xeroderma Pigmentosum.

ROCHA, 2016	Cultura e viabilidade celular; determinação do mecanismo de morte; ensaio de cometa e reparação de danos; análise do ciclo celular e síntese de DNA; formação de complexos de DNA e análise estatística.	Apesar do reparo de danos ao DNA ser um mecanismo protetor para as células normais, impedindo a permanência de lesões que poderiam levar a morte celular ou indução de mutações, em células tumorais este mecanismo geralmente apresenta efeitos contrários, removendo as lesões que seriam responsáveis pela morte celular, diminuindo a eficácia dos tratamentos.
PRATI, 2014	Cultura de células, ensaio da viabilidade celular, análise da expressão de genes envolvidos nas vias de reparo do dano ao DNA, análise da expressão de proteínas envolvidas nas vias de reparo de dano ao DNA.	O HPV pode modular as vias de resposta ao dano ao DNA, utilizando as proteínas envolvidas no reparo para a sua replicação. As proteínas virais impedem a parada do ciclo e impossibilita a indução da morte celular gerando e acumulando danos na célula.

BUSATTO, 2015	A reparação direta é tida como o mecanismo mais simples relativamente mais precisa devido ao seu alto grau de especificidade, apresentando um limitado número de substratos.	A reparação direta é tida como o mecanismo mais simples relativamente mais precisa devido ao seu alto grau de especificidade, apresentando um limitado número de substratos.
NEPOMUCEN O et al. 2017	Revisão sistemática envolvendo 71 artigos sobre os mecanismos mais importantes que ocorrem em resposta aos danos do DNA de uma célula procariótica	A regulação da reparação do DNA é dependente de dois fatores primordiais: o tipo de lesão ao DNA que necessita de reparo e as características dos substratos relacionados ao ciclo celular.
LUTZ, 2017	Trinta e duas amostras de CPT e tecido tireoidiano normal adjacente foram obtidos de pacientes submetidos à tireoidectomia total. A média de idade foi de 39,8 $\pm$ 14 anos e a proporção de mulheres foi de 87,5%. A mediana do tamanho do tumor foi de 2,4 cm (0,7-6,3).	A presença da mutação BRAFV600E foi encontrada em 59% da população e está especialmente relacionada com a desregulação de genes das vias de reparo de mal pareamento (MMR) e reparo por excisão de nucleotídeos (NER).

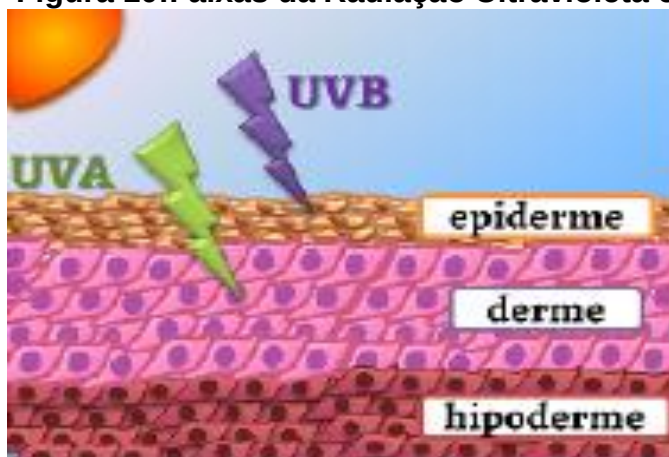
SANTOS, 2016	Estudo de acompanhamento observacional em pacientes pediátricos para avaliar os danos do DNA pelo Ensaio Cometa Alcalino e expressão gênica da via de NER durante a indução da quimioterapia. Amostras de medula óssea (MO) ao diagnóstico, dia 15 (D15) e 30 (D30) do tratamento foram coletadas de 28 pacientes com LLA.	A via de reparo por excisão de nucleotídeos (NER) é a via de reparo do DNA mais versátil, sendo capaz de restaurar um grande número de lesões na célula. A abundância de bases e nucleotídeos no genoma faz com que NER seja a via de reparo mais importante.
CATARINO, 2017	Esta monografia foi realizada com base numa pesquisa bibliográfica atual, maioritariamente assente em artigos científicos publicados entre os anos de 2001 e 2017.	Compreender o funcionamento de proteínas que compõe o mecanismo por excisão de bases é importante, visto que alterações nas atividades dessas enzimas podem traduzir-se na expressão de doenças neurodegenerativas.

Fonte: Própria do autor, 2018

Como observado no quadro acima estudos foram realizados com a finalidade de obter melhor compreensão dos mecanismos de reparo do DNA quando ele sofre interferência de fatores endógenos (como o metabolismo da mitocôndria e NADPH oxidases, geram espécies reativas de oxigênio como subproduto e afetam o DNA além de outras moléculas na célula, como lipídios de membrana) e exógenos (radiação ionizante, radiação ultravioleta, agentes químicos).

A luz ultravioleta, por ser parte integrante da radiação solar, é o agente físico capaz de lesionar o DNA a que estamos mais expostos. Subdividida didaticamente em três faixas de acordo com o comprimento de onda: UVA, com comprimento entre 320 e 400 nm; UVB, entre 280 e 320 nm e UVC, entre 100 e 280nm. Por apresentar maior comprimento de onda, a luz UVA é menos energética e possui maior penetrância na pele quando comparado com luz UVB. Porém, mesmo atingindo somente a epiderme, a luz UVB é a maior responsável pelo efeito biológico nocivo de luz UV sobre as células por ser mais absorvida pelas moléculas de DNA (LIMA, 2015).

Figura 10: Faixas da Radiação Ultravioleta e sua penetrância na pele.



Fonte: Adaptado de Rastogi et al., 2010

Segundo NEPOMUCENO et al. (2017), As radiações não ionizantes não apresentam energia suficiente para promover a liberação de elétrons e seu poder de penetração celular é reduzido em seres pluricelulares. No entanto, apresentam poder deletério à molécula de DNA e principalmente por atuarem na radiólise da água, o que gera os radicais hidroxila extremamente reativos (OH).

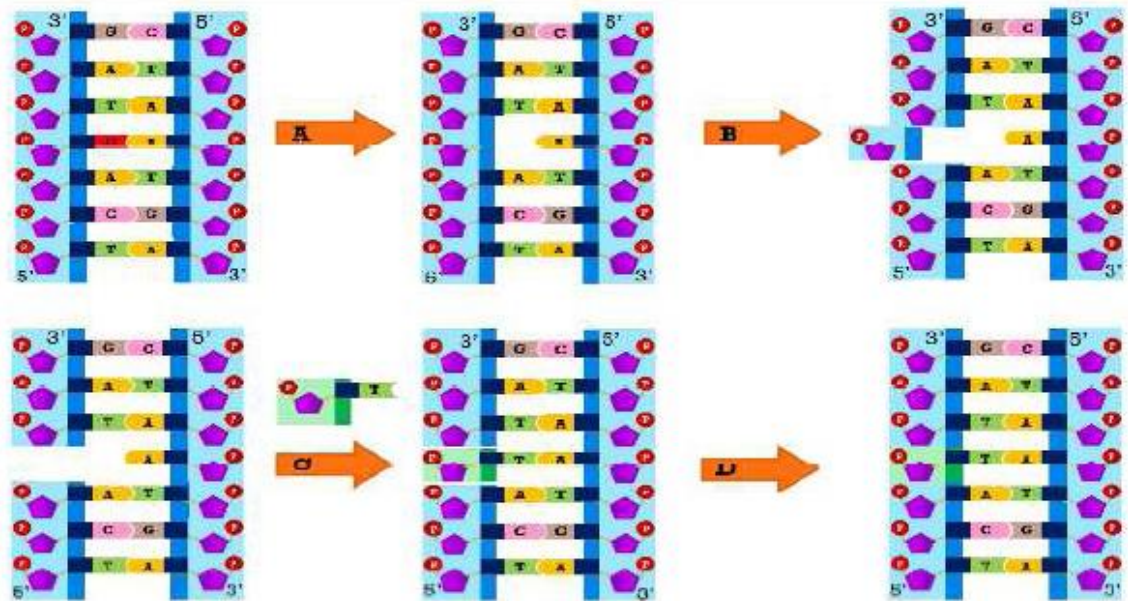
De acordo com LIMA (2015), a remoção de fotoprodutos é realizada somente pela via de reparo do DNA denominada de reparo por excisão de nucleotídeos (NER). BUSATTO (2015), SANTOS (2016) e NEPOMUCENO et al. (2017), concordam que a NER é a via de reparo mais versátil e flexível. Em contrapartida, LUTZ (2017) afirma que a NER, por examinar todo o genoma identificando lesões, é um processo relativamente lento e menos eficiente.

A abundância de bases e nucleotídeos no genoma faz com que o reparo por excisão de nucleotídeos seja a via de reparo mais importante, pois repara um grande número de lesões podendo restaurar a informação genética. Essa via compreende mais de trinta interações proteína-proteína e trabalha removendo os danos do DNA causados por agentes externos e internos, incluindo a quimioterapia (SANTOS, 2016).

NEPOMUCENO et al. (2017) afirma que o NER também é importante para a sobrevivência e função adequada das células neuronais, sendo essencial para o reparo de lesões endógenas. CATARINO (2017) afirma que os neurônios realizam muitas reações de metabolismo do oxigênio, existindo poucas enzimas antioxidantes no cérebro. As lesões mais prováveis de ocorrer nesse órgão são lesões de origem oxidativa. Desta forma pode-se constatar que o bom funcionamento do BER tem um papel fundamental na preservação da função neural. Em contra partida, SANTOS (2016) afirma que falhas por quebra da dita dupla estão associadas a várias desordens, incluindo as neurológicas.

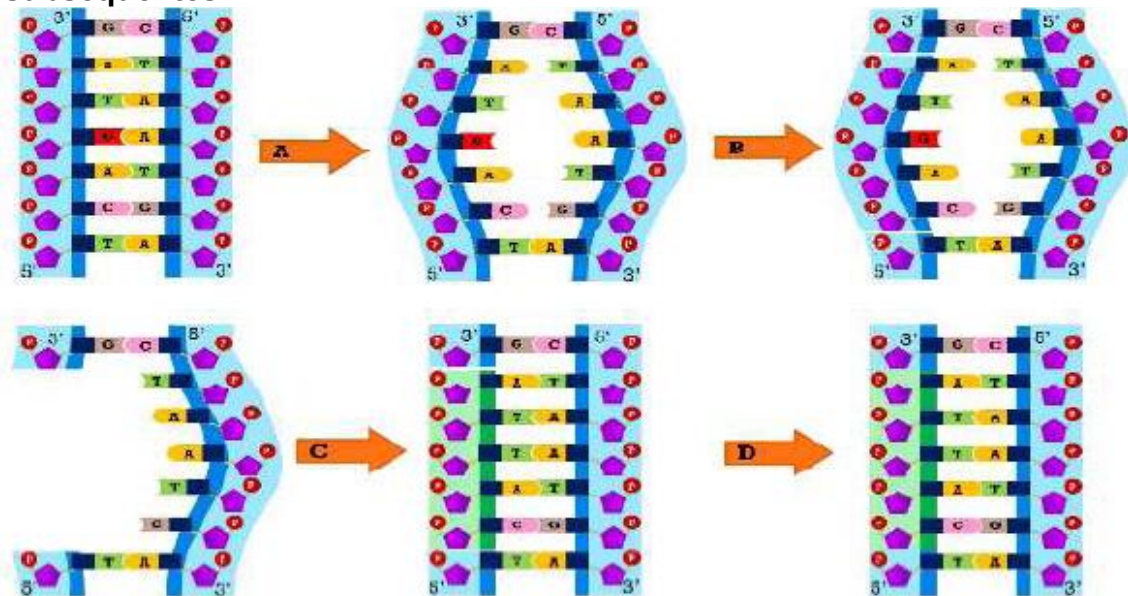
Na opinião de BUSATTO (2015) o Reparo Direto é tido como o mecanismo mais simples, pois se utiliza de enzimas simples que conseguem reparar as lesões sem que seja necessária a incisão da cadeia açúcar-fosfato do DNA ou a excisão de bases, ou seja, para ele esse mecanismo é mais preciso. NEPOMUCENO et al. (2017) diz que o Reparo Direto pode ocorrer de duas formas: por excisão de base, conforme representado na Figura 11, ou por excisão de nucleotídeos, esquematizado na Figura 12.

Figura 11: Desenho esquemático representativo do mecanismo de excisão de base nitrogenada na fita simples de DNA, sem comprometimento de bases subsequentes.



Fonte: Nepomuceno (2017)

Figura 12: Desenho esquemático representativo do mecanismo de excisão de nucleotídeo na fita simples de DNA, com comprometimento de bases subsequentes.



Fonte: Nepomuceno (2017)

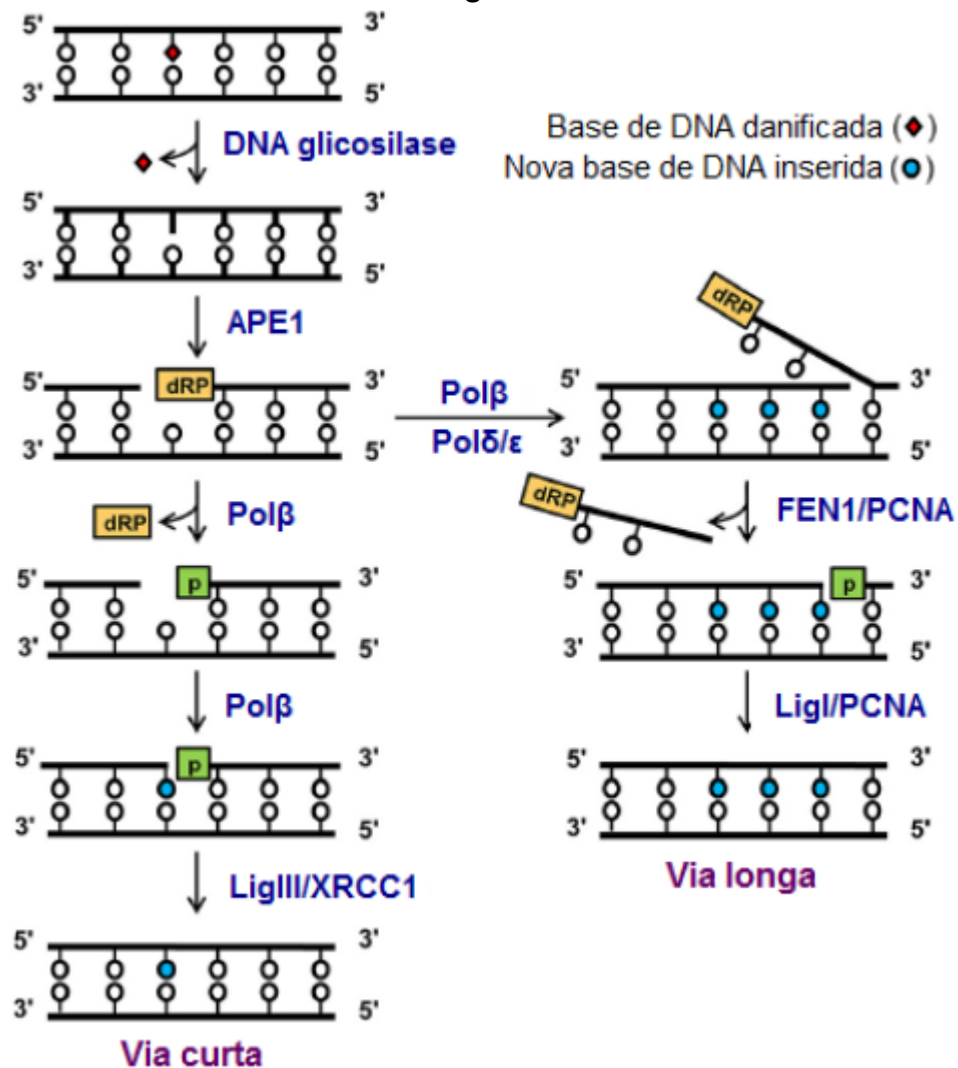
LUTZ (2017) entende que alterações nos níveis de expressão de genes e proteínas das vias de Reparo Direto e da via de Recombinação Homóloga apresentam associação com as características de maior agressividade tumoral. Sendo que no experimento que LUTZ (2017) fez, constatou que a presença da

mutação BRAFV600E foi encontrada em 59% da população e está especialmente relacionada com a desregulação de genes das vias de reparo de mal pareamento (MMR) e reparo por excisão de nucleotídeos (NER).

Durante a fase G1, o DNA está mais propenso a lesões por radiações ionizantes que podem provocar ruptura da fita dupla. As quebras de dupla ligação que ocorrem durante a replicação devem ser reparadas antes do término da fase G2. Nesse caso o Reparo Direto ocorre durante as fases G1 e G2, por utilizar as cromátides irmãs como modelo de replicação (NEPOMUCENO et al. 2017).

O mecanismo por Excisão de Bases é essencial para que ocorra o metabolismo celular de forma normal, sendo o principal responsável por reparar DNA após sofrer processos de desaminação, oxidação e alquilação (CATARINO, 2017). Para LUTZ (2017), o BER é um processo multienzimático que, de maneira geral, requer quatro principais enzimas: DNA glicosilase, AP endonuclease, DNA polimerase e DNA ligase. Para ele esse mecanismo pode reparar até oito bases, como pode ser observado na figura abaixo.

Figura 13: Mecanismo de reparo por excisão de bases. A lesão é reconhecida e removida por DNA glicosilase e sofre a ação de uma endonuclease AP. Em seguida, de acordo com o tipo de lesão, o BER é realizado através da via curta ou via longa.



Fonte: Adaptado de Carter e Persons (2016)

De acordo com BUSATTO (2015) e SANTOS (2016), alterações nas vias de reparo do DNA contribuem para resistência tumoral, reduzindo assim a efetividade do quimioterápico, ou seja, a deficiência nos sistemas de reparo está associada a uma maior susceptibilidade aos antineoplásicos. ROCHA (2016) entende que os tumores utilizam os mecanismos de reparo NER e DSB como alternativas para a sua sobrevivência. Desta forma, a atividade diminuída, bem como a inibição das vias de reparo destes danos ao DNA pode potencializar a eficácia ou a especificidade de certos agentes antitumorais. SANTOS (2016) diz que, em pacientes com LMA, seria proposto a inibição da reparação de DNA para aumentar a eficácia de agentes

quimioterápicos, pois o aumento da reparação do DNA contribui para a resistência a fármacos, além do risco de recidiva da doença.

LUTZ (2017) ainda afirma que a principal consequência da disfunção do reparo por mal pareamento é o surgimento da Síndrome de Lynch (doença autossômica dominante, com surgimento precoce (< 45 anos), caracterizada por um risco aumentado de desenvolvimento de câncer, principalmente o colorretal).

PRATI (2014) traz uma curiosidade sobre a atuação das oncoproteínas E6 e E7 do HPV sobre o mecanismo de reparo. Ele diz que essas oncoproteínas quando são danificadas por radiação ionizante, a síntese de DNA da célula é impedida gerando um acúmulo de erros em seu DNA.

Por fim, CATARINO (2017), entende que com o passar da idade há um declínio entre 50 e 70% no desempenho do reparo do DNA, devendo se: a diminuição da produção de enzimas e ao organismo estar mais vulnerável a alterações externas.

5 CONCLUSÃO

A reparação precisa dos danos exercidos ao DNA é de suma importância para a integridade do genoma. Caso essas lesões não sejam reparadas, essas mutações podem provocar efeitos genotóxicos severos e induzir a morte celular, ou mesmo resultar na incorporação de alterações no genoma a ser transmitidas para as gerações futuras. Além disso, podem gerar instabilidade genômica e induzir o aparecimento de câncer.

Alterações na estrutura do DNA podem ser causadas por agentes intrínsecos derivados do metabolismo ou por agentes extrínsecos, como exposições tóxicas agudas e exposições ambientais crônicas. Por este motivo, durante o ciclo celular existem pontos de verificação (*checkpoints*) antes da divisão e distribuição do material genômico das células mitóticas para as células filhas. Quando algum erro é detectado, há uma pausa na replicação para que ocorra o reparo do DNA ou para que haja a indução de morte celular.

A regulação da reparação do DNA é dependente de dois fatores: o tipo da lesão ao DNA que necessita de reparo e as características dos substratos relacionados com o ciclo celular.

REFERÊNCIAS

ALIZADEH, E.; SANCHE, L. Role of humidity and oxygen level on damage to DNA induced by soft X-rays and low-energy electrons. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 117, n. 43, p. 22445-22453, 2013.

ALVES, R. S. **Ocorrência e percepção de câncer de pele entre pescadores profissionais em Cáceres, Mato Grosso**. 2013. 18 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade do Estado de Mato Grosso, Cáceres, 2013.

ALTIERI F, et al. DNA damage and repair: from molecular mechanisms to health implications. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 10, n. 5, p. 891-937, Mai. 2008.
Atlas Solarimétrico do Brasil: banco de dados solarimétricos/ coordenador Chigueru Tiba. et al. – Recife: Ed. Universitária da UFPE, 2000.

BARDINI, G.; LOURENÇO, D.; FISSMER, M. C. Avaliação do conhecimento e hábitos de pacientes dermatológicos em relação ao câncer da pele. **Arq. Catarin. Med**, v. 41, n. 2, p. 56-63, 2012.

BAYLIN SB, OHM JE. Epigenetic gene silencing in cancer - a mechanism for early oncogenic pathway addiction? **Nature Reviews. Cancer**, v. 6, n. 2, p. 107-16, Fev. 2006.

BECK, S. E, et al. Wavelength dependent UV inactivation and DNA damage of adenovirus as measured by cell culture infectivity and long range quantitative PCR. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 1, p. 591 – 598, 2013.

BOBOLA, M.S.; KOLSTOE, D.D.; BLANK, A.; CHAMBERLAIN, M.C.; SILBER, J.R. Repair of 3-methyladenine and abasic sites by base excision repair mediates glioblastoma resistance to temozolomide. **Frontiers in Oncology**, v.176, n. 2, 2012.

BONT, R.; LAREBEKE, N. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. **Mutagenesis**, v. 19, n. 3, p. 169-185, 2004.

BUSATTO, F. F. **Influência de Mecanismos de Resposta a Danos do DNA na Resistência de Células de Leucemia ao Antineoplásico Mitoxantrona**. 2015. 89 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

CARTER, R. J.; PARSONS, J. L. Base excision repair, a pathway regulated by posttranslational modifications. **Molecular and Cellular Biology**, v.36, n. 10, p. 1426-1437, 2016.

CATARINO, P. M. M. **Mecanismo de Reparação de DNA por Excisão de Base**. 2017. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto Superior de Ciências da Saúde, Portugal, 2017.

CHRISTMANN et al., Mechanisms of human DNA repair: an update. **Toxicology**, v. 193, n. 1-2, p. 3-34, 2003.

CLEAVER, J. E.; LAM, E. T.; REVET, I. Disorders of nucleotide excision repair: the genetic and molecular basis of heterogeneity. **Nat Rev Genet**, v. 10, n. 11, p. 756-768, 2009.

HOEIJMAKERS Jh. DNA damage, aging, and câncer. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 15, out. 2009.

CURTIN NJ. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target. **Nature Reviews. Cancer**, v. 12, n. 12, p. 801-17, Dez. 2012.

DA SILVA FC, et al. Mismatch repair genes in Lynch Syndrome: a review. **Revista paulista de medicina**, v. 127, p. 46-51, Jan. 2009.

FORGET, A. L.; KOWALCZYKOWSKI, S. C. Single-molecule imaging brings Rad51 nucleoprotein filaments into focus. **Trends in Cell Biology**, v. 20, n. 5, p. 269-276, 2010.

FU, D.; CALVO, J. A.; SAMSON, L. D. Balancing repair and tolerance of DNA damage caused by alkylating agents. **Nature Reviews Cancer**, v. 12, p. 104-120, 2012.

FUKUI K. DNA mismatch repair in eukaryotes and bacteria. **Jornal of Nucleic Acids**, Jul. 2010.

GOMES, L. R. **Biofísica para Ciências da Saúde**. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa. 335-376, 2005.

HAYNES B, et al. Crosstalk between Translesion Synthesis, Fanconi Anemia Network, and Homologous Recombination Repair Pathways in Interstrand DNA Crosslink Repair and Development of Chemoresistance. **Mutation research. Reviews in mutation research**, v. 763, p. 258-66, Jan-Mar. 2015.

HEGI ME, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. **The New England journal of medicine**, v. 352, p. 997-1003, Mar. 2005.

HELLEDAY, T.; et al. DNA repair pathways as targets for cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 8, p. 193-204, 2008.

HEYER, W.; EHMSSEN, K.; LIU, J. Regulation of homologous recombination in eukaryotes. **Annu. Rev. Genet**, v. 44, p. 113-139, 2010.

HOEIJMAKERS, J. H. J. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. **Nature**, v. 411, p. 366–374, 2001.

HSIEH P, YAMANE K. DNA mismatch repair: Molecular mechanism, cancer, and ageing. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 129, n. 7-8, p. 391–407, Jul-Ago. 2008.

INCA. **Incidência de Câncer no Brasil/ Estimativa 2016**. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/tabelaestados.asp?UF=PI> Acesso em: 10 dez. 2017.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. **Estimativa 2014**: incidência do câncer no Brasil. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>. Acessado em 13 dez. 2017.
Instituto Nacional de Câncer (Brasil). **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer/ Instituto Nacional de Câncer**. – Rio de Janeiro: Inca, 2011.

JACOBS AL, SCHAR P. DNA glycosylases: in DNA repair and beyond. **Chromosoma**, v. 121, n. 1, p. 1–20, Fev. 2012.

JUNQUEIRA, J; CARNEIRO, L. C. **Biologia Celular e Molecular**. 9. Ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2012.

KAUR, H.; SHARMA, P.; SHEORAN, P. DNA Repair and Acclimatisation to Damage under Ionizing Radiations. **LS: International Journal of Life Sciences**, v. 4, n. 3, p. 165-187, 2015.

KREJCI, L.; et al. Homologous recombination and its regulation. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. 13, p. 5795-5818, 2012.

KROKAN, H. E.; BJØRAS, M. Base excision repair. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, 2013.

LI, G. Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. **Cell Research**, v. 18, p. 85-98, 2008.

LIMA, L. C. A. Resposta a Danos no DNA Após Exposição à Luz Ultravioleta: apagando o fogo antes do incêndio celular. **Revista da Biologia**, São Paulo, p. 6-16, jan. 2015.

LORD, C. J; ASHWORTH, A. The DNA damage response and cancer therapy. **Nature**, v. 481, n. 7381, p. 287-294, 2012.

LUTZ, B. S. **Análise da expressão dos genes de reparo do DNA no carcinoma papilar da tireoide**. 2017. 102 f. Dissertação (Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, 2017.

MALACQUIN N, et al. DDR-mediated crosstalk between DNA-damaged cells and their microenvironment. **Frontiers in Genetics**, v. 12, n. 6, p. 94, Mar. 2015.

MANAIA, E. B. et al. Inorganic UV filters. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49.

MARTEIJN JA, et al. Understanding nucleotide excision repair and its roles in cancer and ageing. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 15, n. 7, p. 465-81, Jul. 2014.

MEIRELLES, N. M. L. **Influência do sistema de reparo do DNA sobre o prognóstico e a resposta à quimioterapia no câncer colorretal**. 2016. 199 f. Dissertação (Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Ciências da Saúde, Porto Alegre, 2016.

MENCK, C. F; MUNFORD, V. DNA repair diseases: What do they tell us about câncer and aging? **Genetics and Molecular Biology**, v. 37 (1 suppl), p. 220-33, mar. 2014.

MICHL J, ZIMMER J, TAROUNAS M. Interplay between Fanconi anemia and homologous recombination pathways in genome integrity. **The EMBO Journal**, v.35, n.9, p.909-923, Mai. 2016.

NAY SL, O'CONNOR TR. Direct Repair in Mammalian Cells. In: Clark Chen. **New Research Directions in DNA Repair**, p. 123-162, 2013.

NEPOMUCENO, L. L, et al. Mecanismo de Reparo aos Danos no DNA nos Pontos de Checagem do Ciclo Celular. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, n. 25, p. 811, 2017.

PEREIRA, E.B. et al. **Atlas Brasileiro de Energia Solar** – São José dos Campos: INPE, 2006.

POMPEU, G. F. et al. Estudo Comparativo sobre a Conscientização dos Hábitos de Fotoproteção e dos Fatores de Risco da Carcinogênese de Pele em Trabalhadores de Rua. **Revista Científica da UNIBRAS**, n. 2, v. 1, 2013.

PRADO, B. B. F. Influência dos Hábitos de Vida no Desenvolvimento do Câncer. **Ciência e Cultura**, São Paulo, n. 1, v. 66, 2014.

PRATI, B. **Expressão de Genes de Vias de Reparo de Dano ao DNA em Células Infectadas por Papilomavírus Humano (HPV)**. 2014. 83 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

PRICE, N. E, et al. Interstrand DNA–DNA cross-link formation between adenine residues and abasic sites in duplex DNA. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 9, p. 3483-3490, 2014.

REINHARDT, H. C.; YAFFE, M. B. Phospho-Ser/Thr-binding domains: navigating the cell cycle and DNA damage response. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 14, n. 9, p. 563-580, 2013.

REINHARDT, H. C.; SCHUMACHER, B. The p53 network: Cellular and systemic DNA damage responses in aging and cancer. **Trends Genet**, v. 28, n. 3, p. 128-136, 2012.

ROBERTSON, A. B, et al. Base excision repair: the long and short of it. **Cell. Mol. Life Sci**, v. 66, p. 981-993, 2009.

ROCHA, J. C. **Influência do Reparo por Excisão de Nucleotídeos na Citotoxicidade do Antineoplásico Mitoxantrona**. 2016. 168 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

ROOS WP, THOMAS AD, KAINA B. DNA damage and the balance between survival and death in cancer biology. **Nature Reviews. Cancer**, v. 16, n. 1, p. 20-33, Jan. 2016.

SANTOS, R. P. **Avaliação do Dano de DNA em Pacientes Pediátricos com Leucemia Linfóide Aguda durante a Terapia de Indução**. 2016. 80 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

SANTIVASI, W.L. & XIA, F. The role and clinical significance of DNA damage response and repair pathways in primary brain tumors. **Cell Biochemistry and Function**, v. 3, 2013.

SCHARER, OD. Nucleotide excision repair in eukaryotes. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 5, n. 10, Out. 2013.

SHARMA, R. A.; DIANOV, G. L. Targeting base excision repair to improve cancer therapies. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 28, p. 345-374, 2007.

SIMONELLI V, et al. Crosstalk between mismatch repair and base excision repair in human gastric cancer. **Oncotarget**, Jun. 2016.

SOARES, J. P, et al. Aging and DNA damage in humans: a meta-analysis study. **Aging (Albany NY)**, v. 6, n. 6, p. 432 – 439, 2014.

SPIVAK G, GANESAN AK. The complex choreography of transcription-coupled repair. **DNA Repair (Amst)**, v. 19, p. 64-70, Jul. 2014.

STARESINCIC L, et al. Coordination of dual incision and repair synthesis in human nucleotide excision repair. **The EMBO Journal**, v. 28, n. 8, p. 1111–1120, Abr. 2009.

SVRCEK M, et al. Methylation tolerance due to an O6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) field defect in the colonic mucosa: an initiating step in the development of mismatch repair-deficient colorectal cancers. **Gut**, v. 59, n. 11, p. 1516-1526, Nov. 2010.

SYMINGTON, L. S.; GAUTIER, J. Double-Strand Break End Resection and Repair Pathway Choice. **Annu. Rev. Genet**, v. 45, p. 247-271, 2011.

TEIXEIRA, F. M. **Mutações Cromossômicas e Principais Síndromes**. 2015. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Genética para Professores do Ensino Médio) – Modalidade de Ensino à Distância, Universidade Federal do Paraná.

TSODIKOV OV, et al. Structural basis for the recruitment of ERCC1-XPF to nucleotide excision repair complexes by XPA. **The EMBO Journal**, v. 26, n. 22, p. 4768-76, Nov. 2007.

URASAKI, M. B. M. et al. Práticas de Exposição e Proteção Solar de Jovens Universitários. **Revista Brasileira de Enfermagem**, n. 1, v. 69, jan/fev. 2016.

VOLKER M, et al. Sequential assembly of the nucleotide excision repair factors in vivo. **Molecular Cell**, v. 8, n.1, p. 213-24. Jul. 2001.

XU-WELLIVER, M.; et al. Degradation of the alkylated form of the DNA repair protein O6-alkylguanine-DNA-alkyltransferase. **Carcinogenesis**, v. 23, n. 5, p. 823-830, 2002.

ZAHA, A.; FERREIRA, H. B.; PASSAGLIA, L. M. P. **Biologia Molecular Básica**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

ZHOU, B. B; ELLEDGE, S. J. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. **Nature**, v. 408, n. 6811, p. 433-9, 2000.

