

T12 MUTAÇÕES ESPONTÂNEAS E AGENTES MUTAGÊNICOS (PARTE 1)

APARECIDA MARIA FONTES

24 de Outubro de 2019

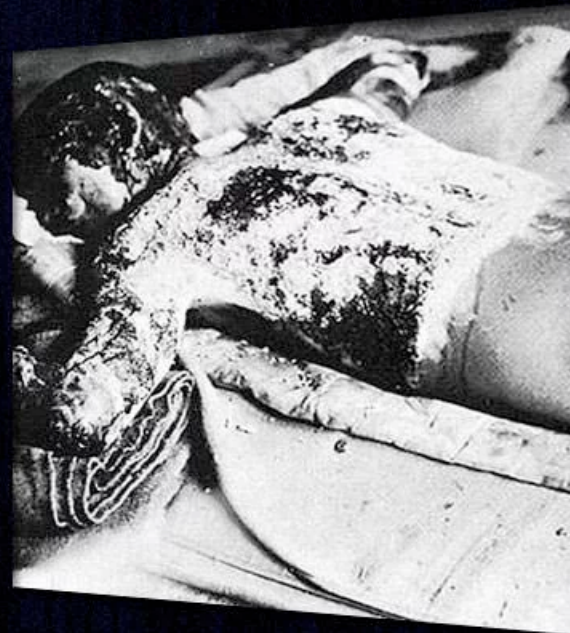
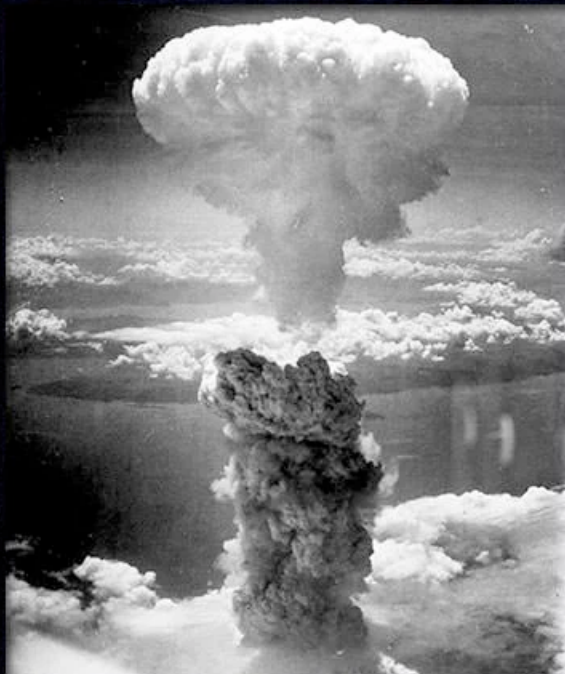
Por que estudar agentes mutagênicos?

Somos constantemente expostos a diferentes substâncias químicas, muitas vezes uma única substância por se não seja carcinogênica, mas a exposição a um conjunto dessas substâncias podem perturbar os mecanismos celulares que reconhecem essas exposições ambientais e eliminariam antes que ocorra o dano ao DNA.

Agentes mutagênicos afetam a integridade estrutural do genoma, e como consequência podem resultar em distúrbios de uma ou mais redes metabólicas que regulam vários aspectos das funções celulares. Isso pode ser responsável pelas doenças genéticas.

Humanos são expostos a agentes físicos e químicos e existe um período de latência entre a exposição e o aparecimento de câncer ou outras doenças adquiridas.

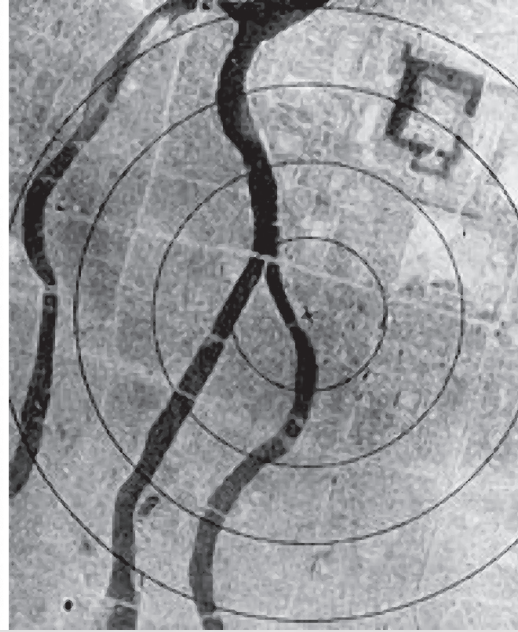
Bomba Atômica em Hiroshima e Nagasaki, 1945



Urânio-235

Plutônio-235

Bomba Atômica em Hiroshima e Nagasaki, 1945



Acidente de Chernobyl (Ucrânia), 1986



400 x mais radiação que BA Hiroshima

Explosão de um reator de energia nuclear e liberou material radioativo atingindo Inglaterra, Europa Ocidental, Escandinávia e União Soviética. De 15 mil a 80 mil mortes

Rompimento da Barragem de Rejeitos em Mariana, 2015 e Brumadinho, 2019



Mariana: área total = 1469 hect. (663 km de rios e córregos) e destruição do Rio doce.

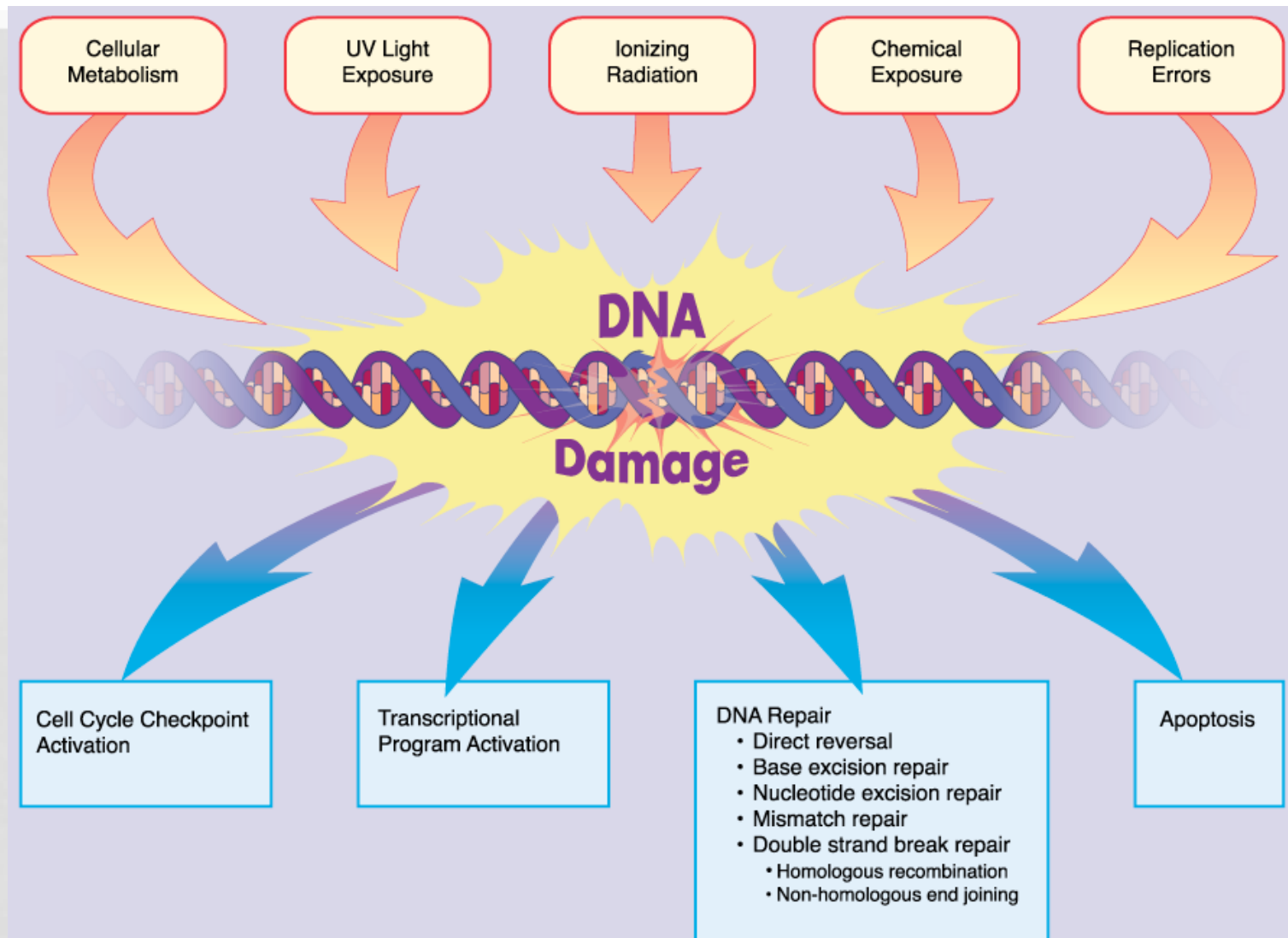


Brumadinho: área total 290 hect., contaminação de recursos hídricos e solo

Como as mutações podem ser introduzidas?

- ☐ Erros na replicação do DNA.
- ☐ Falhas nos sistemas de reparo do DNA
- ☐ Mutações espontâneas (depurinação, desaminação e mudanças tautoméricas).
- ☐ Agentes Físicos (Ex. Radiação, luz ultravioleta).
- ☐ Agentes Químicos (Ex. Carcinógenos).

AGENTES MUTAGÊNICOS



AGENTES MUTAGÊNICOS

Mutagens : types, effects and examples

Mutagens	Effects	Examples
Carcinogens	Carcinogenesis and tumor formation.	Chemical : Aflatoxins Biological : Retroviruses Physical : X-ray Irradiation
Clastogens	Chromosome breaks, deletions, rearrangements.	Chemical : Bleomycin Biological : HIV virus Physical : UV waves
Teratogens	Congenital malformations.	Chemical : Valproate Biological : Toxoplasma gondii Physical : X-ray irradiation
Non-specific mutagens	Non-specific damage to the genetic material.	Chemical : Innumerable types Physical : X-ray irradiation Biological : Toxoplasma, Viruses

MUTAÇÕES ESPONTÂNEAS

MUTAÇÃO ESPONTÂNEA

DEPURINAÇÃO

DESAMINAÇÃO

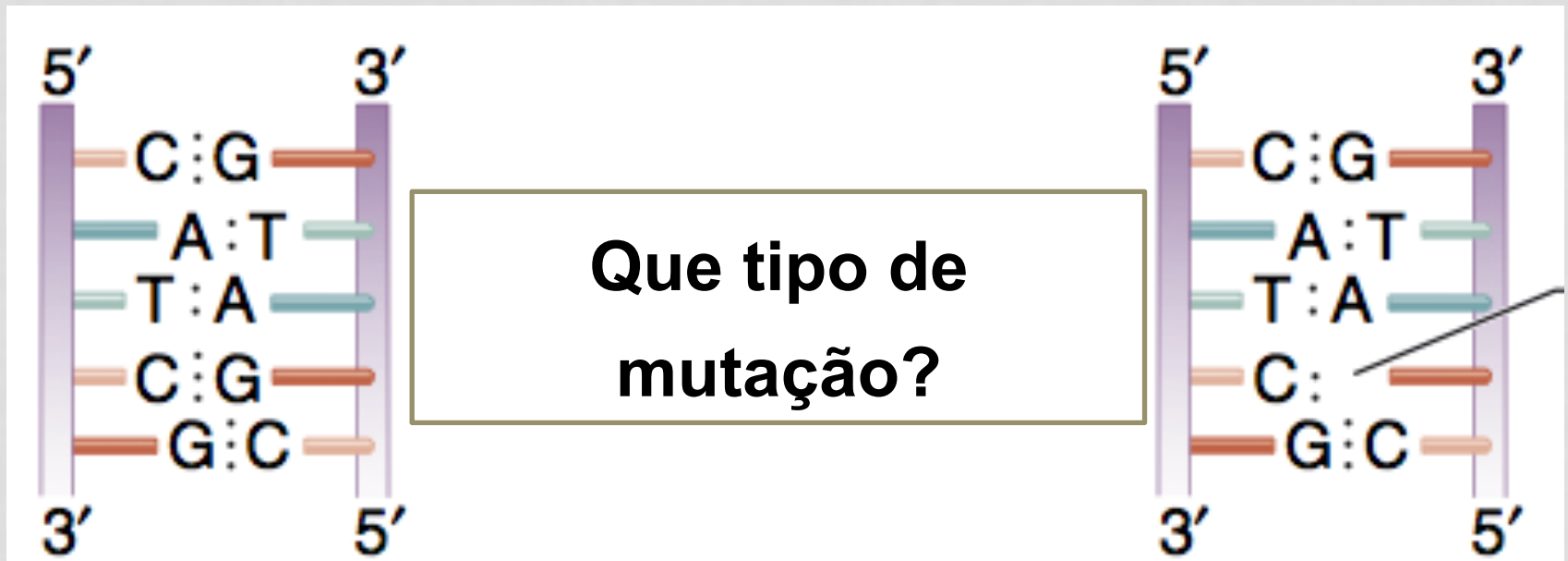
MUDANÇAS TAUTOMÉRICAS

DANO OXIDATIVO

TRANSPOSONS

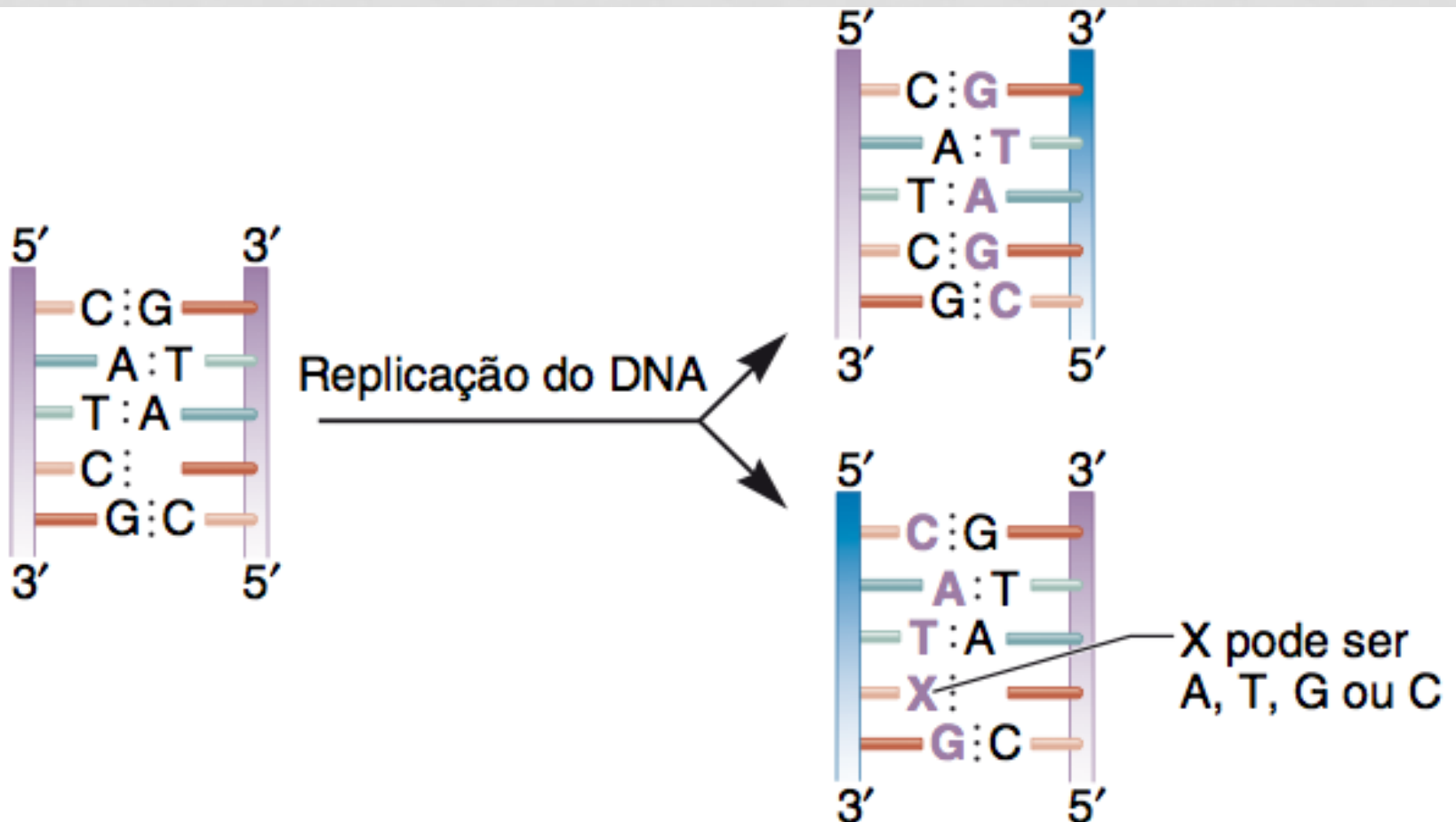
1. DEPURINAÇÃO

- ✧ Remoção de uma base purina (adenina ou guanina) de um nucleotídeo, deixando o arcabouço de açúcar-fosfato intacto .



- ✧ Quando o DNA se replicar, qualquer nucleotídeo pode ser inserido no lado oposto da posição vaga.

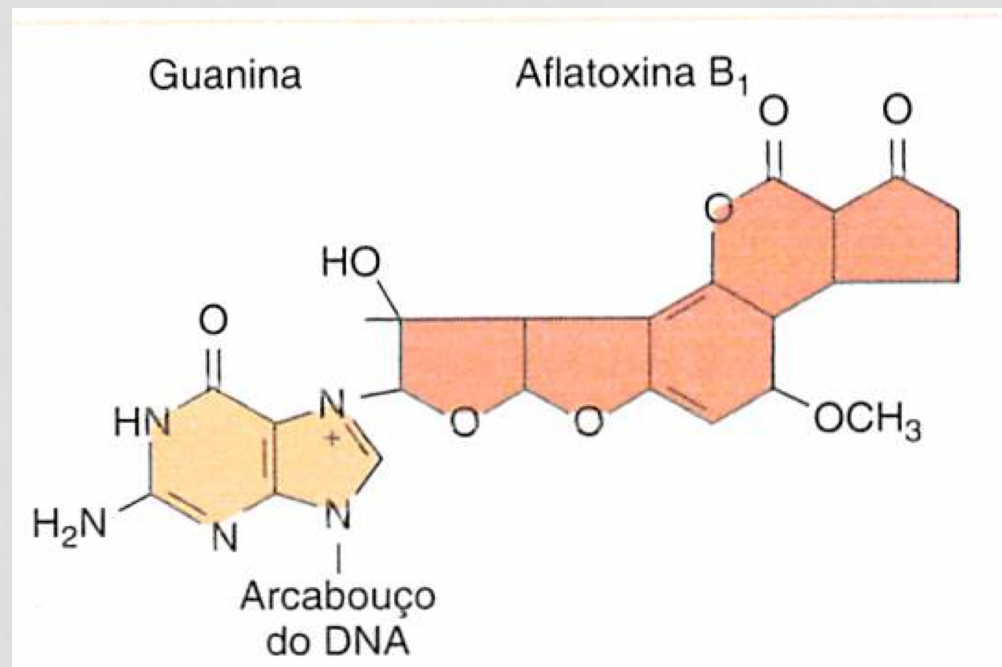
1. DEPURINAÇÃO



Depurinação é sempre espontânea?

❑ Não, pode ser induzida por agentes químicos mutagênicos.

✧ Exemplo: **Aflatoxina B₁**.



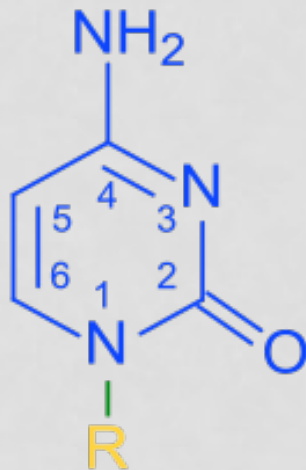
Aflatoxina B1 – micotoxina produzida por fungo

2. DESAMINAÇÃO: DEFINIÇÃO

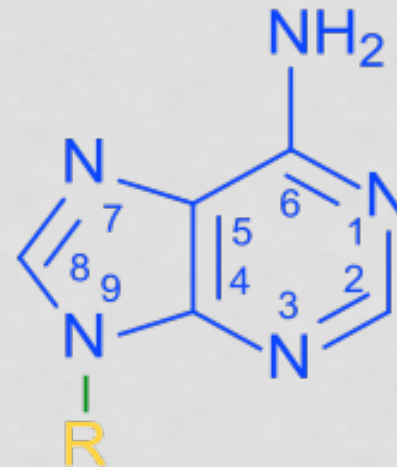
O Que é desaminação?

- ❑ Perda de um radical amina.

Quais bases apresentam radical amina?



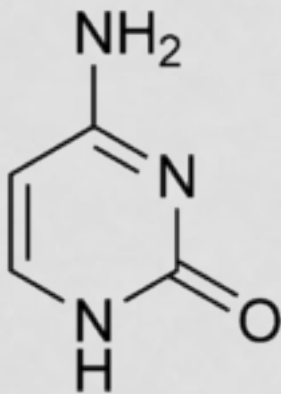
Citosina (pirimidina)



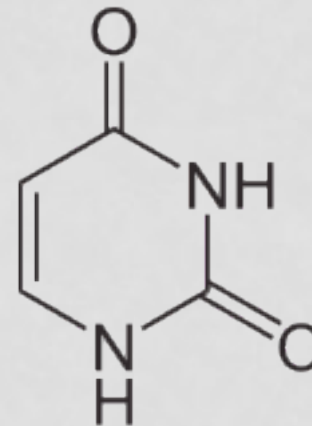
Adenina (purina)

DESAMINAÇÃO: DEFINIÇÃO

O que acontece na desaminação da citosina?



Citosina (pirimidina)



uracil (pirimidina)

DESAMINAÇÃO: EXEMPLO



↓ Hydrolytic deamination



Arginine is replaced
by histidine

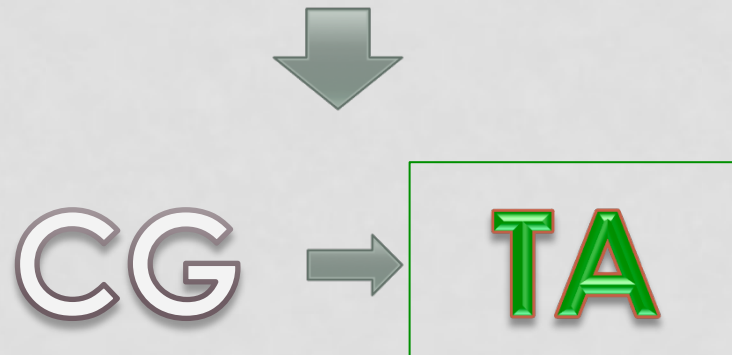
↓ Next replication



transcription
+ translation → I-^{green}H-L

DESAMINAÇÃO

Qual o tipo de mutação induzida por desaminação da citosina?

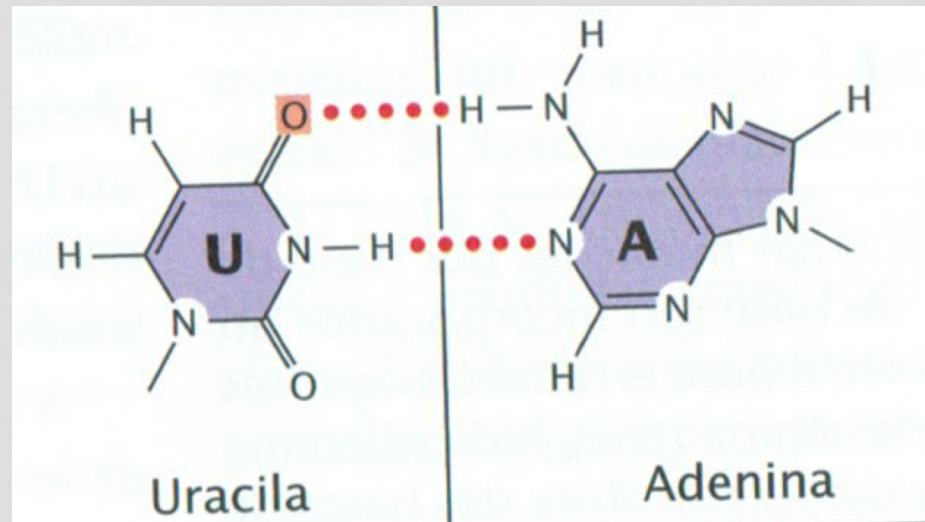
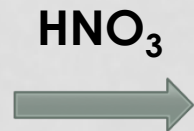
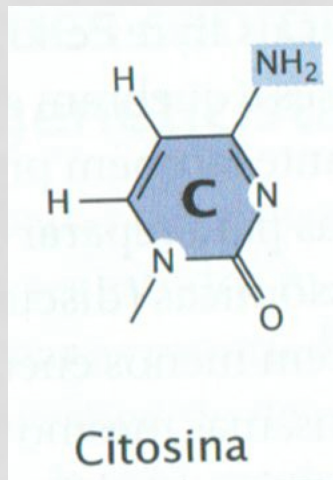


Transição

Desaminação é sempre espontânea?

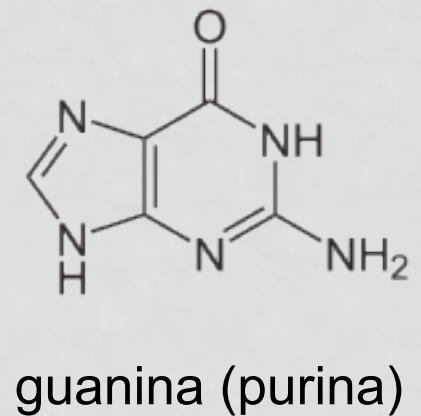
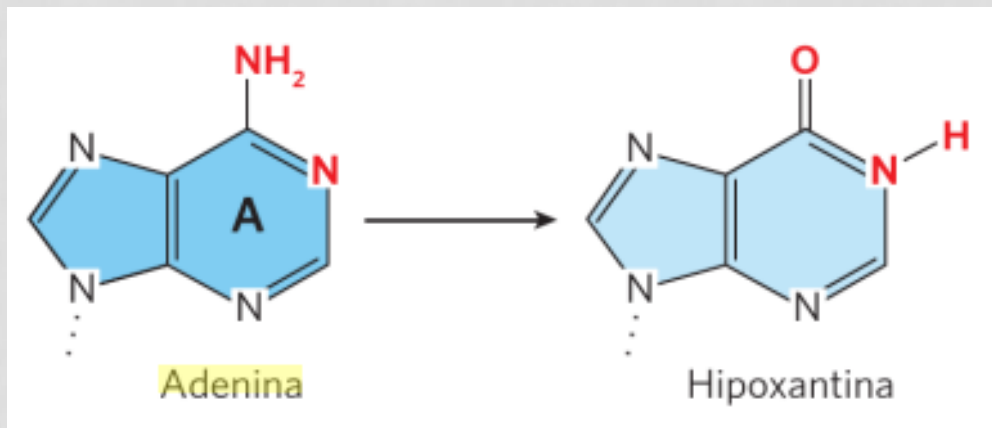
❑ Não, pode ser induzida por agentes químicos mutagênicos.

✧ Exemplo: **Ácido Nitroso.**

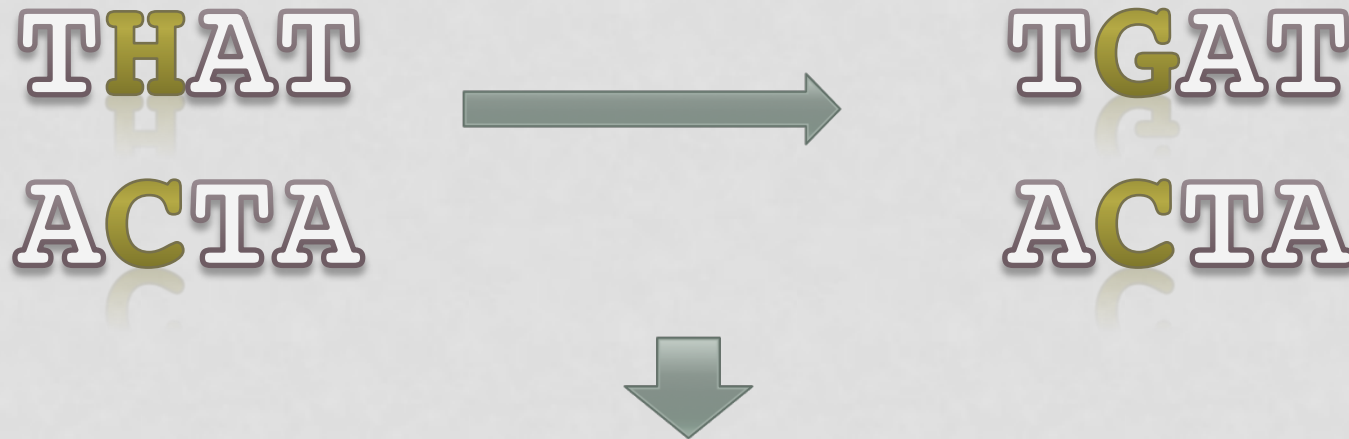


Desaminação pode ocorrer em outra base com radical amina?

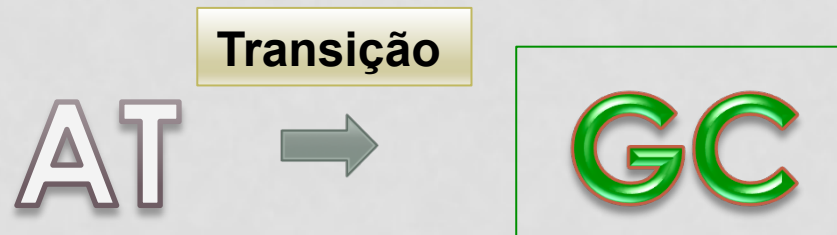
✧ Sim. Exemplo: Adenina



DESAMINAÇÃO DA ADENINA

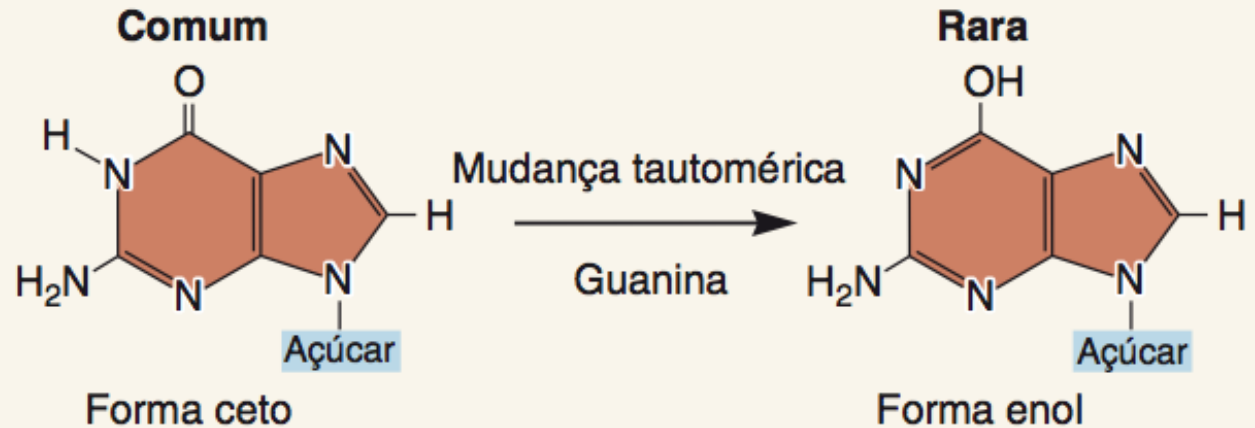


Qual o tipo de mutação induzida por desaminação da adenina?

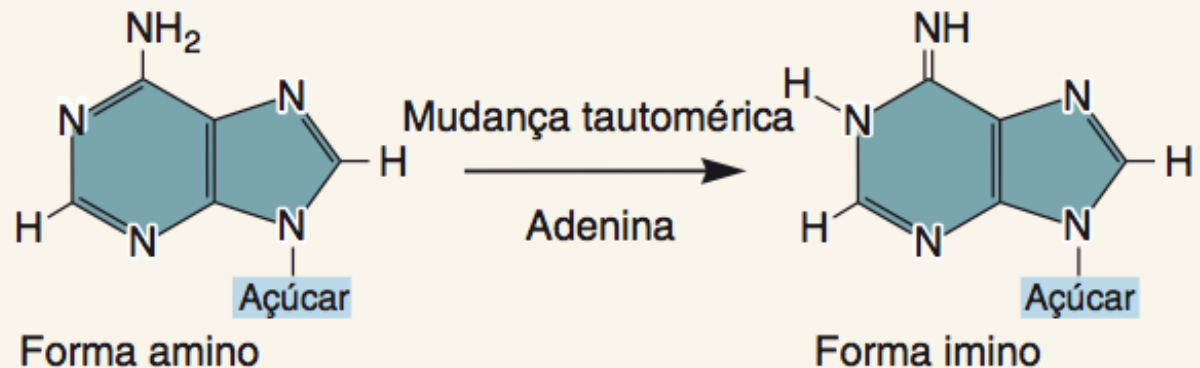


3. MUDANÇAS TAUTOMÉRICAS: PURINAS

FORMA ENOL



FORMA IMINO



3. MUDANÇAS TAUTOMÉRICAS: PIRIMIDINAS

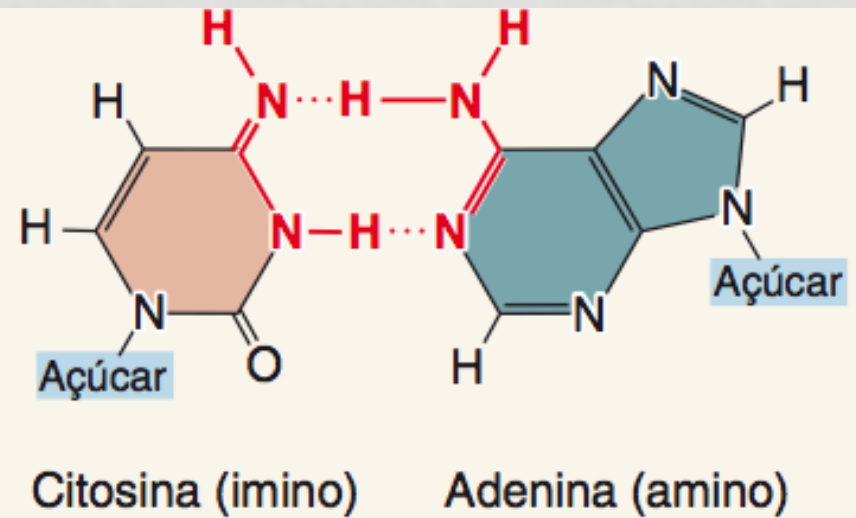
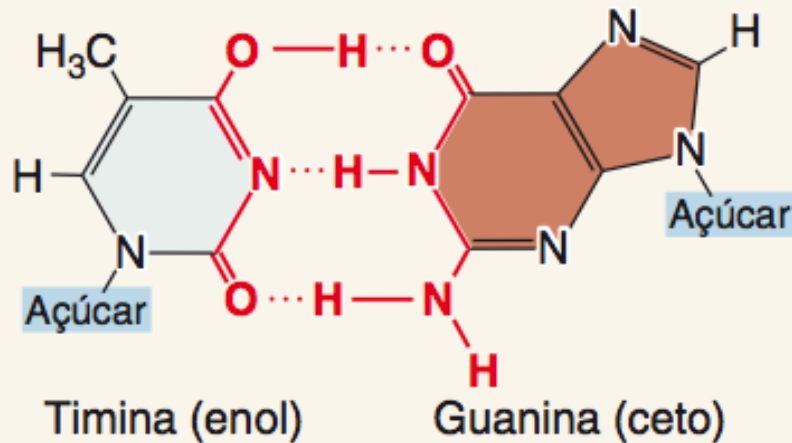
FORMA ENOL



FORMA IMINO



MALPAREAMENTO DEVIDO MUDANÇAS TAUTOMÉRICAS



- ❑ Mudanças tautoméricas causam pareamento atípicos entre os nucleotídeos que levam a mutações de substituição de par de base após a replicação.

4. DANO OXIDATIVO: AGENTES OXIDANTES

- ❑ Os subprodutos dos produtos celulares, por exemplo, gerados durante a respiração aeróbica normal:

SUPERÓXIDOS (O_2^-)

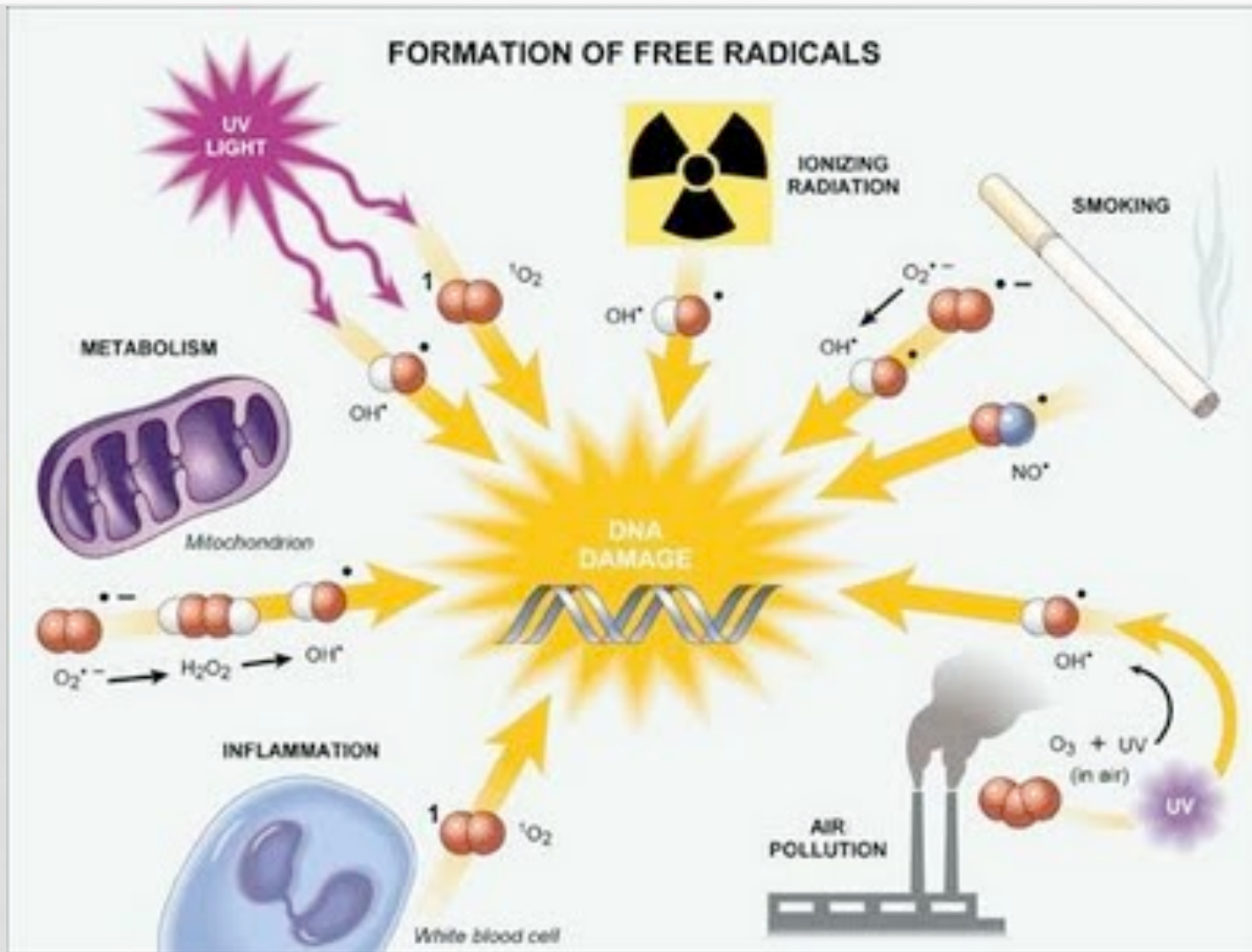
RADICAIS HIDROXILA (OH)

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H_2O_2)

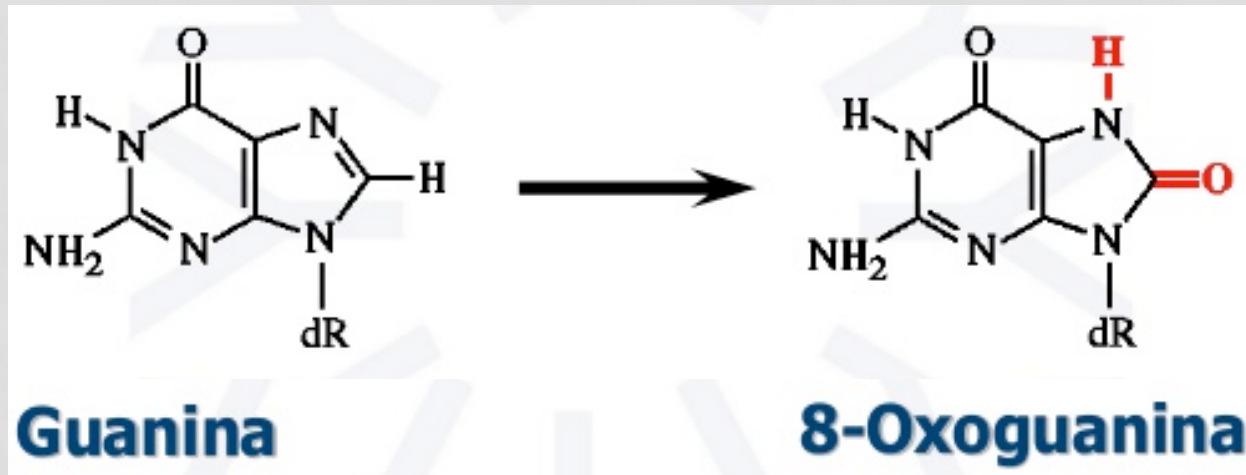


SÃO ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

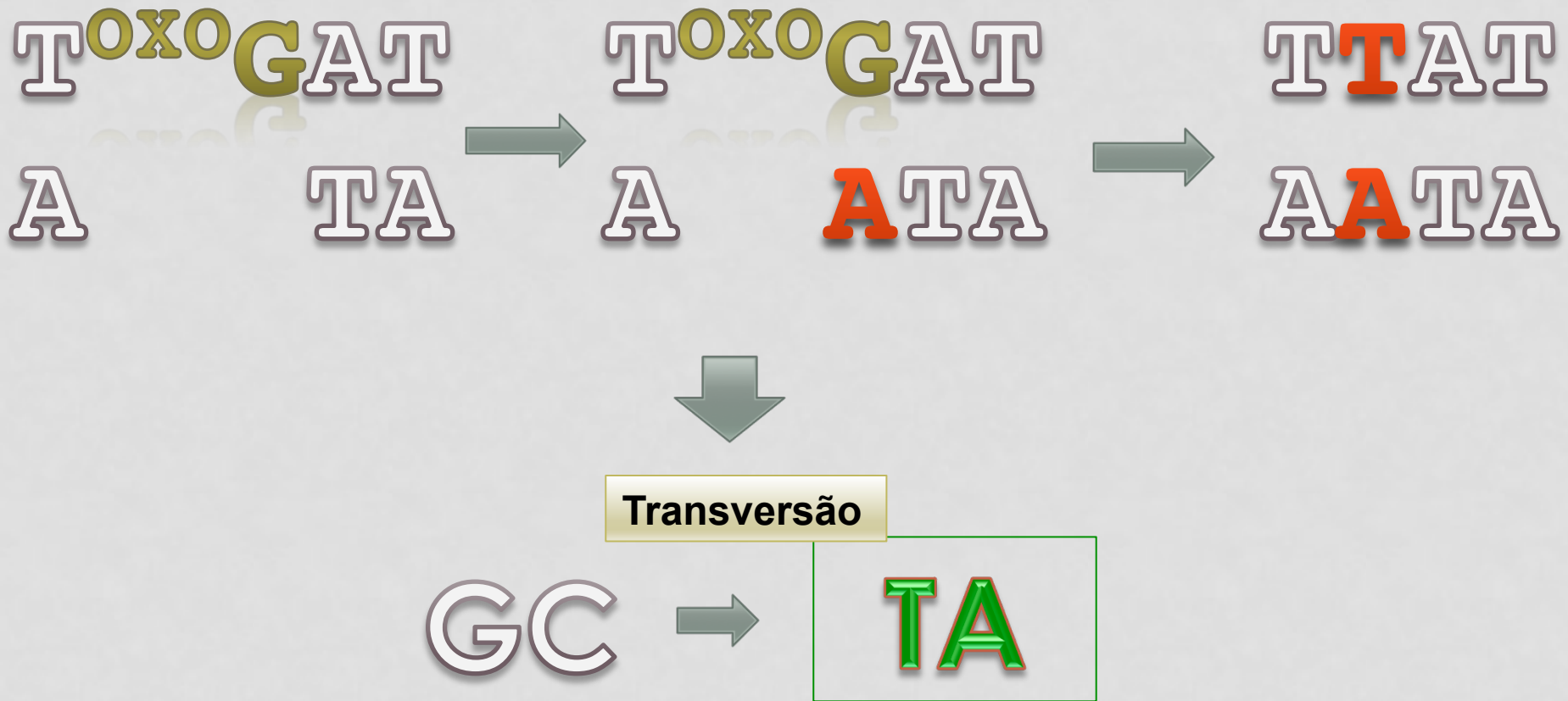
RADICAIS LIVRES E LESÕES NO DNA



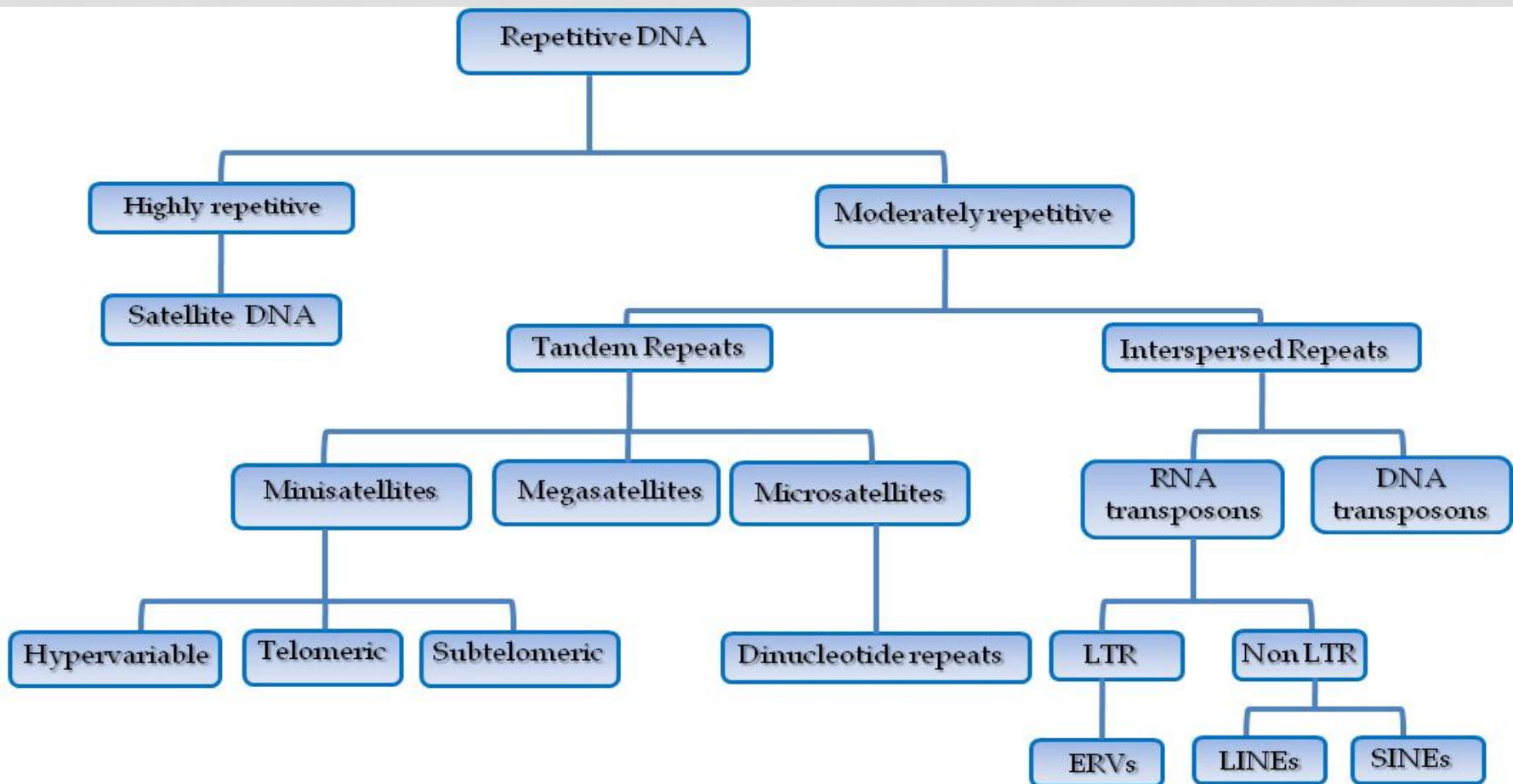
ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO EM PURINAS



ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO EM PURINAS



5. TRANSPOSONS

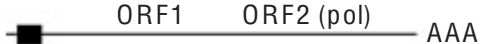
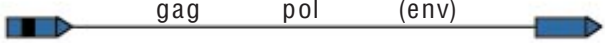


L1

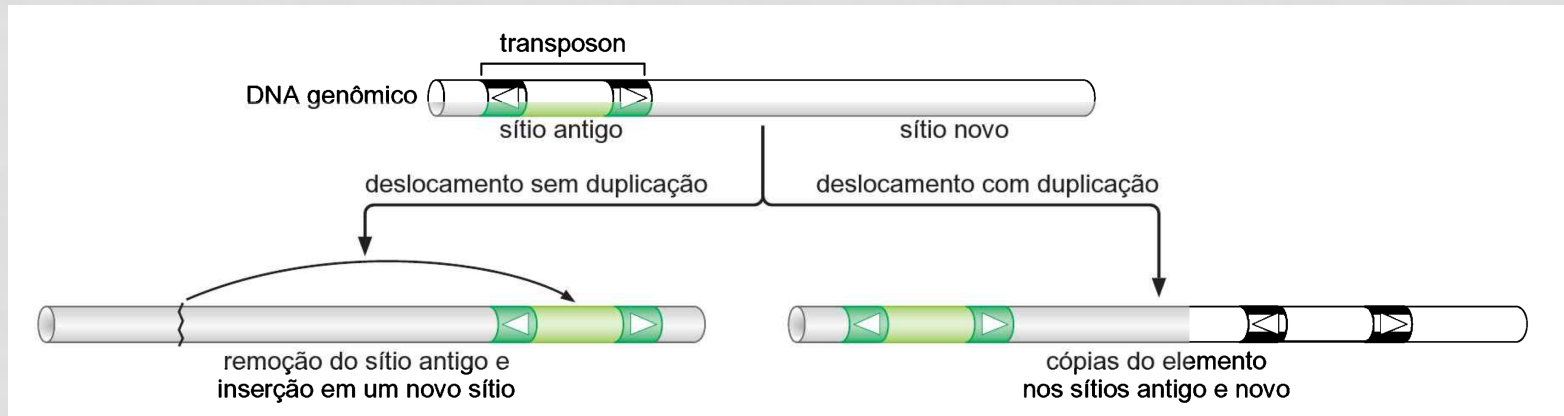
Alu

TRANSPOSONS NO GENOMA HUMANO

Classes of interspersed repeat in the human genome

			Length	Copy number	Fraction of genome
LINES	Autonomous		6–8 kb	850,000	21%
SINEs	Non-autonomous		100–300 bp	1,500,000	13%
Retrovirus-like elements	Autonomous		6–11 kb	450,000	8%
	Non-autonomous		1.5–3 kb		
DNA transposon fossils	Autonomous		2–3 kb	300,000	3%
	Non-autonomous		80–3,000 bp		

CONSEQUÊNCIAS DOS TRANSPOSONS MOVENDO PARA NOVO LOCAL



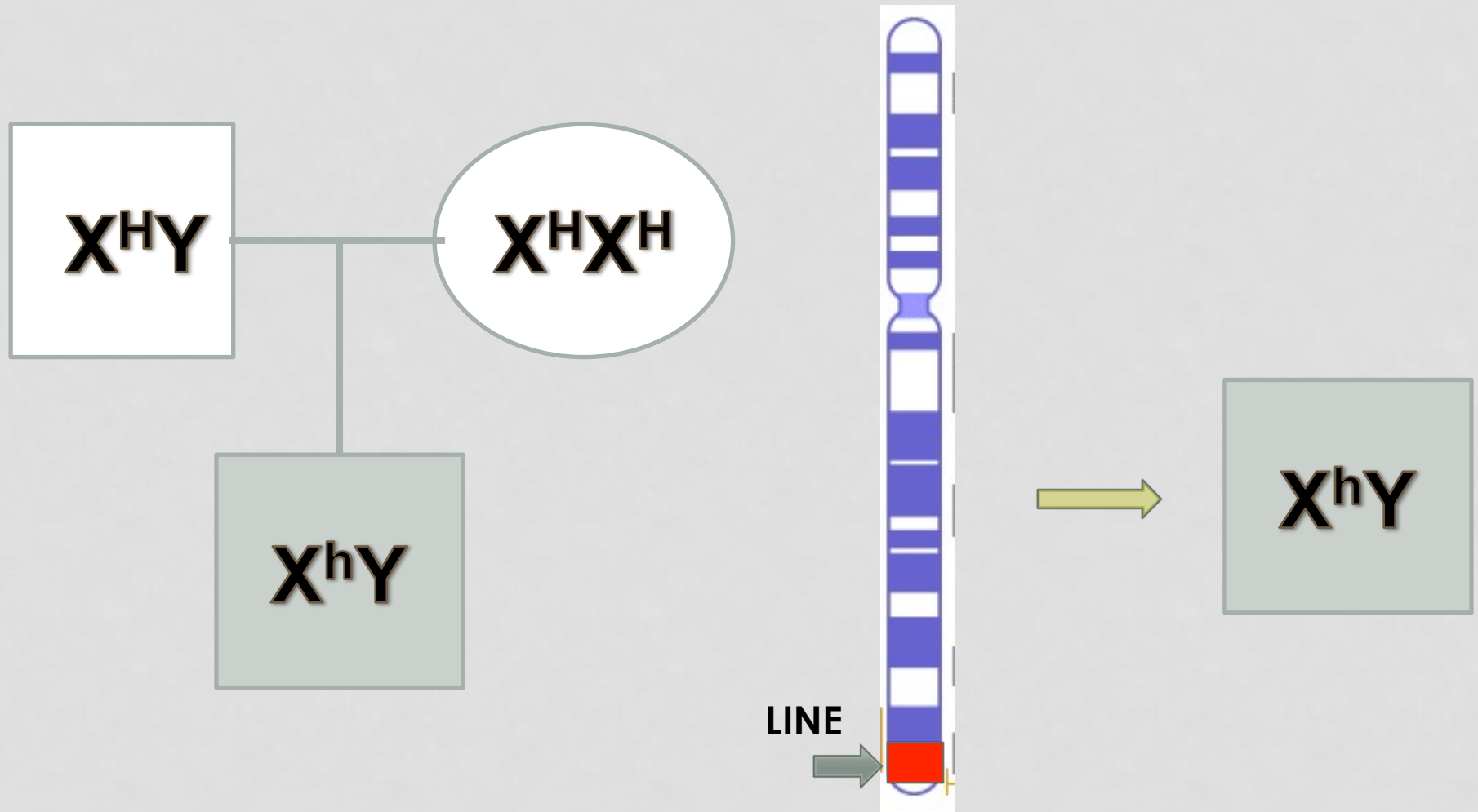
REGIÃO CODIFICADORA: ALTERAR A FASE DE LEITURA
OU CRIAR UM STOP CODON

INSERIR EM REGIÕES REGULADORAS

ROMPER A EXPRESSÃO GÊNICA

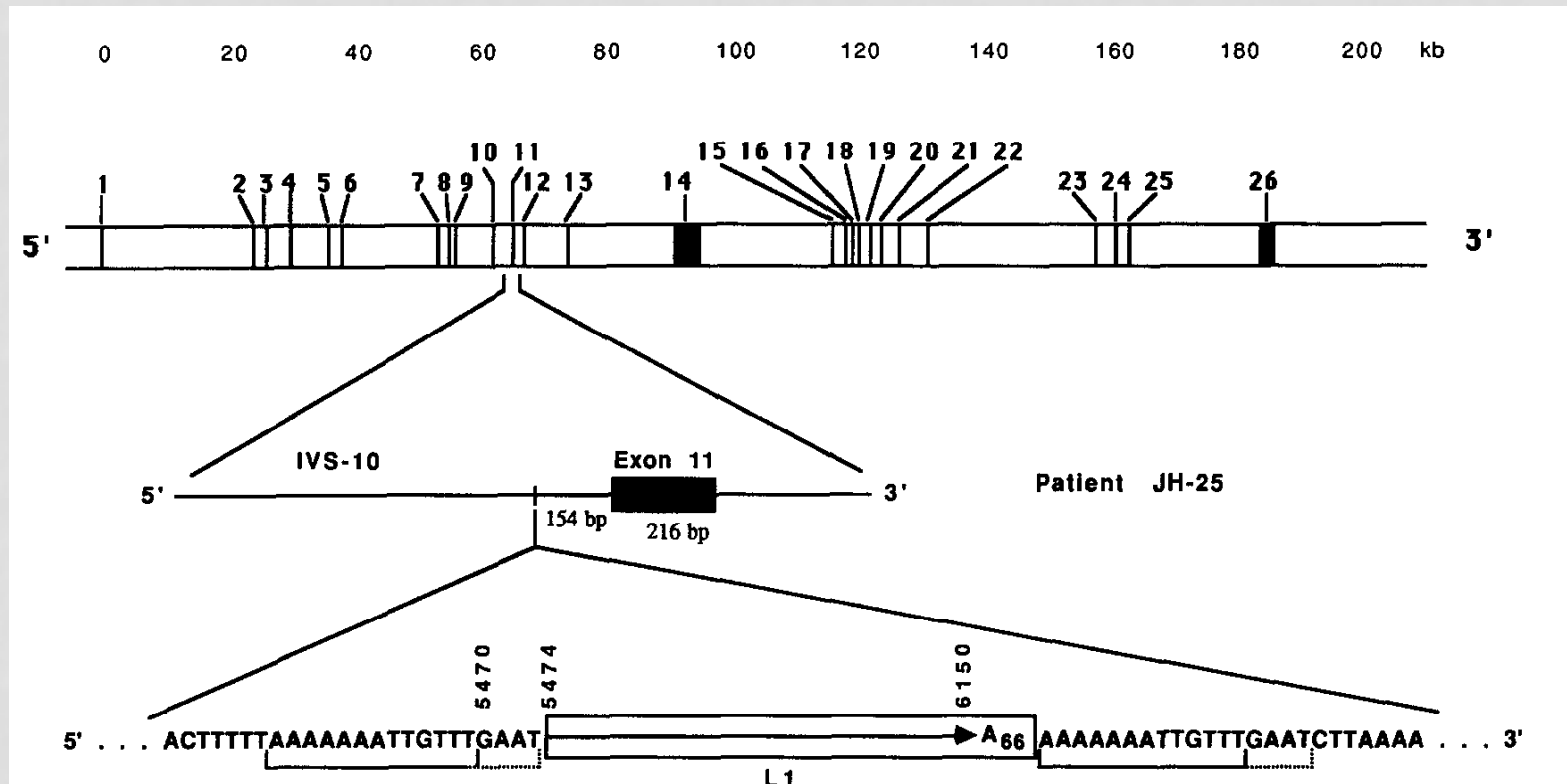
GERAR DANOS CROMOSSOMÔMICOS: QUEBRAS DE FITA
DUPLA OU TRANSLOCAÇÕES ETC..

EXEMPLO: RETROTRANSPOSON LINE E HEMOFILIA A



EXEMPLO: RETROTRANSPOSON LINE E HEMOFILIA A

Mutação: Exemplo inserção L1 no gene FVIII



Kazazian, H. H., et al. Haemophilia A resulting from de novo insertion of L1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man. *Nature* 332, 164–166 (1988)

AGENTE MUTAGÊNICO QUÍMICO

DEFINIÇÕES

O Que é Agente Mutagênico?

- ☐ Qualquer agente químico capaz de aumentar de forma significativa a taxa de mutação acima da taxa espontânea.

Quais as principais classes dos agentes mutagênicos químicos?

- ☐ Análogo de Base
- ☐ Agente Alquilante
- ☐ Agentes Intercalantes
- ☐ Agentes que dependem da ativação metabólica: Hidrocarbonos policíclicos aromáticos (HPA) e aminas heterocíclicas (HCA)

A PARTIR DE 2005: CLASSIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

- ☐ Carcinogênicas para humanos
- ☐ Sugestiva evidência de potencial carcinogênico
- ☐ Informação inadequada para assegurar potencial carcinogênico
- ☐ Provavelmente não carcinogênico para humanos

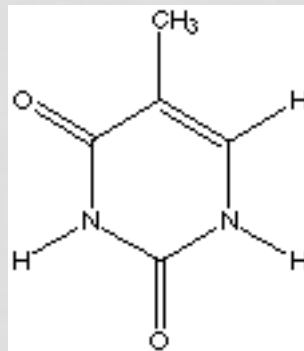
O Que é Análogo de base?

- **Definição:** Substância química com estrutura semelhante a de qualquer uma das quatro bases padrão do DNA.

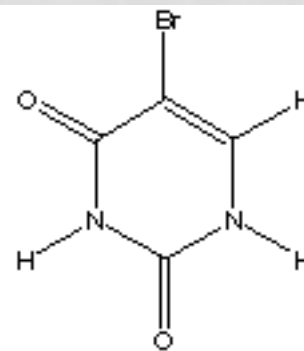
**Exemplo:
5-Bromouracil**



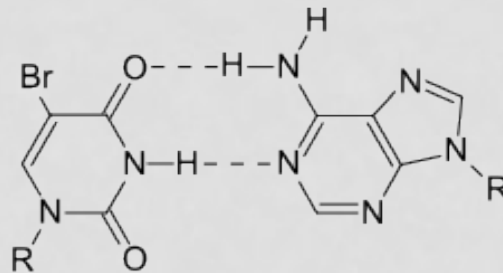
Com muita frequência transforma-se na forma enólica.



Thymine

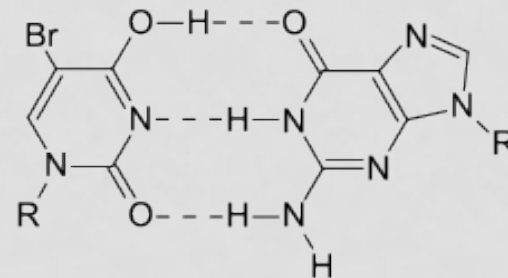


5-Bromouracil (keto form)



5-BrU (keto)

Adenine



5-BrU (enol)

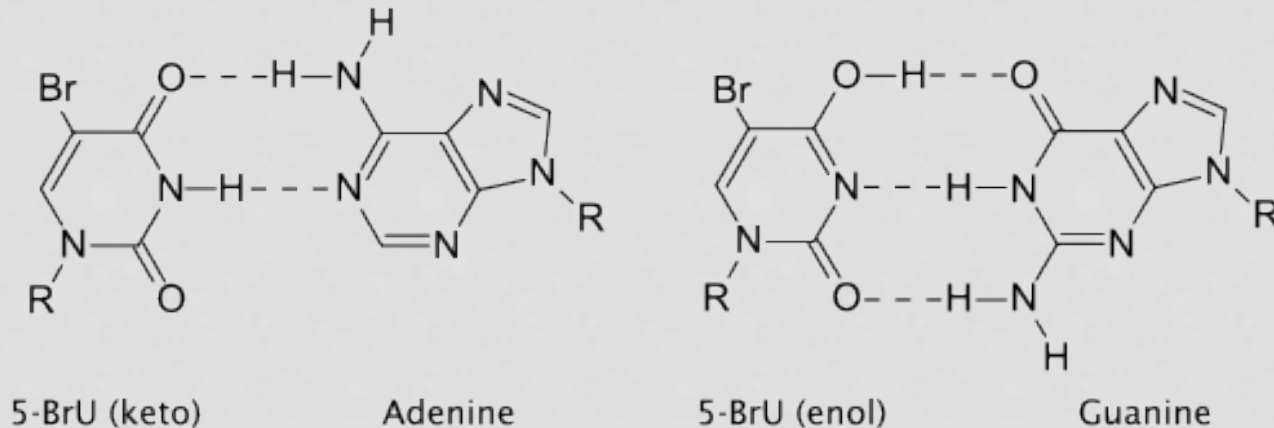
Guanine

COMO INDUZEM DANOS NO DNA

Análogo de base

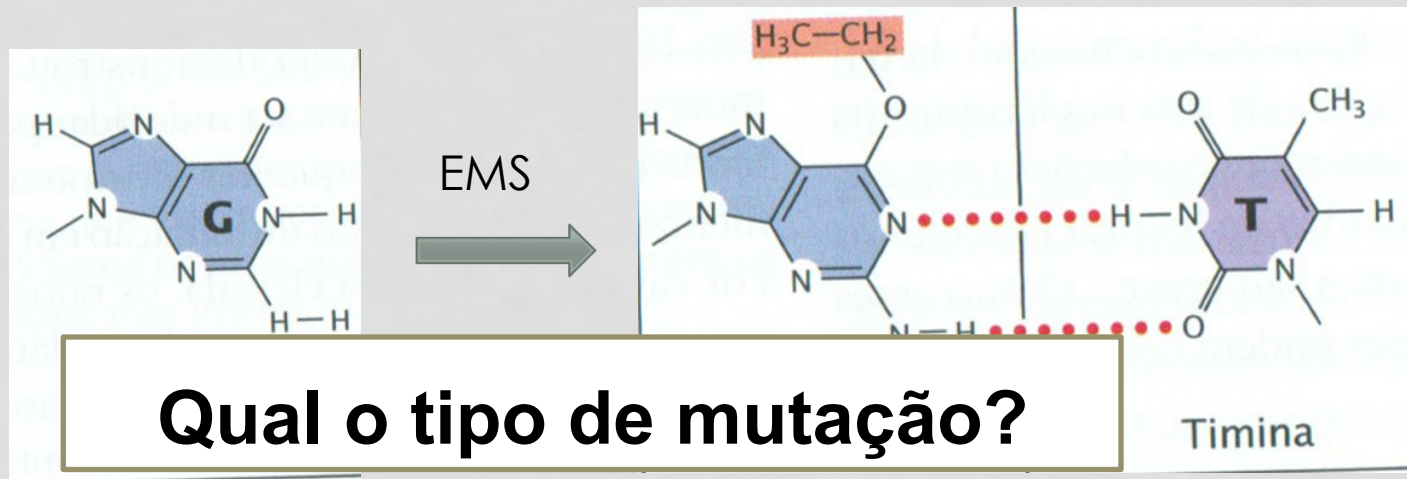
Qual o tipo de mutação?

Na forma enólica realiza o pareamento atípico com guanina. Após a replicação do DNA, G faz pareamento com C. Isso gera transição T .
A para C . G



O Que é Agente Alquilante?

- Substâncias químicas que doam grupos alquila, como metila (CH_3) ou etila ($\text{CH}_3\text{-H}_2$) às bases dos nucleotídeos.
- **Etilmetilsulfonato** – adiciona grupo etil a guanina. O6-etil guanina no próximo ciclo de replicação pareia com Timina.



GC → AT

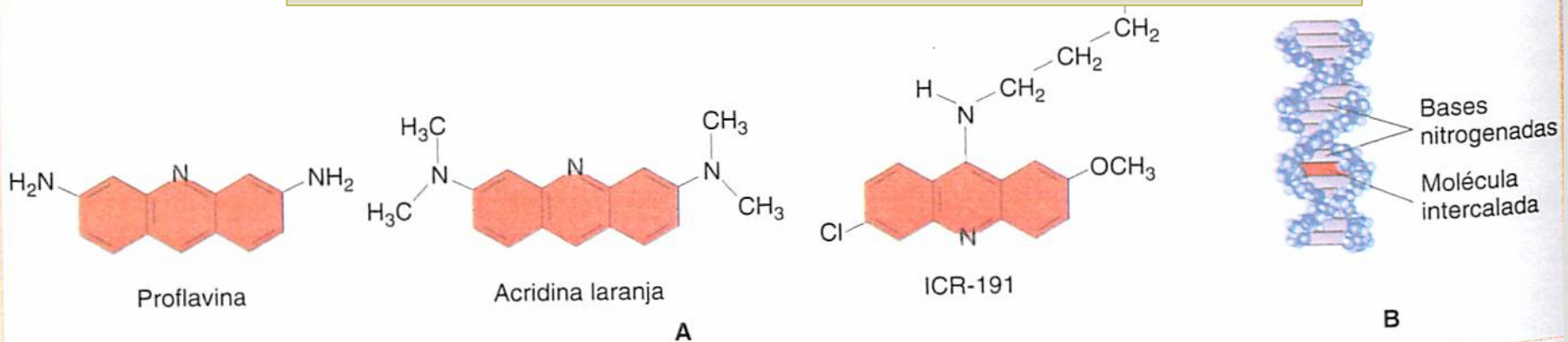
Transição

O Que é Agente Intercalante?

- Substâncias químicas que produzem mutações ao se intercalarem entre as bases adjacentes no DNA.
- Exemplo: **Proflavina, laranja de acridina, brometo de etídeo** – distorcem a estrutura do DNA, provocam inserções e deleções.

Qual o tipo de mutação?

Indel: Inserção ou deleção de um único nucleotídeo



O Que são aminas heterocíclicas e hidrocarbonos aromáticos policíclicos?

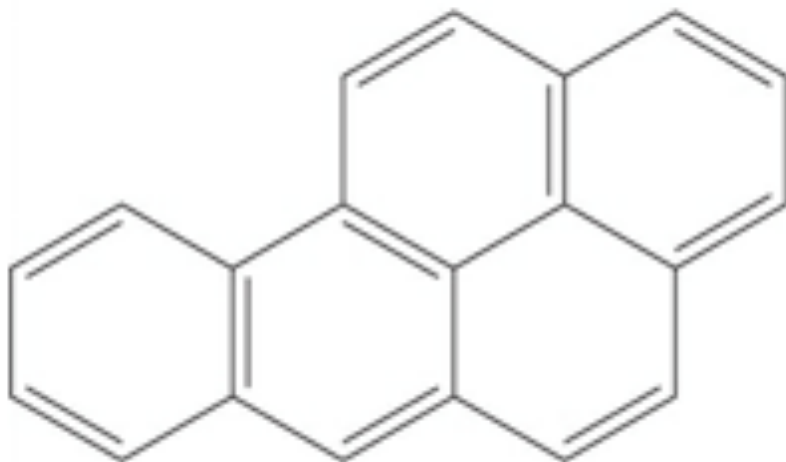
- Substâncias que apresentam estrutura química de dois a cinco anéis aromáticos fundidos formados a partir da combustão incompleta da matéria orgânica.
- Exemplos: **benzopireno** (produto da fumaça do cigarro), **benzantraceno**, amina aromática **naftilamina** (utilizado a síntese de corantes), **antantreno** (quinonas e hidroquinonas).



O Que são aminas heterocíclicas e hidrocarbonos aromáticos policíclicos?

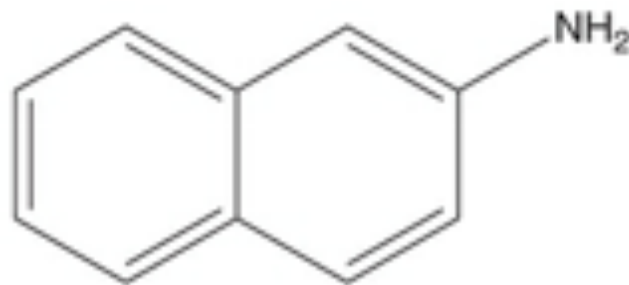
- Pro-carcinogênicos que requerem ativação metabólica e atacam o DNA formando adutos ou levando a dano oxidativo.

Polycyclic aromatic hydrocarbons
(PAHs)



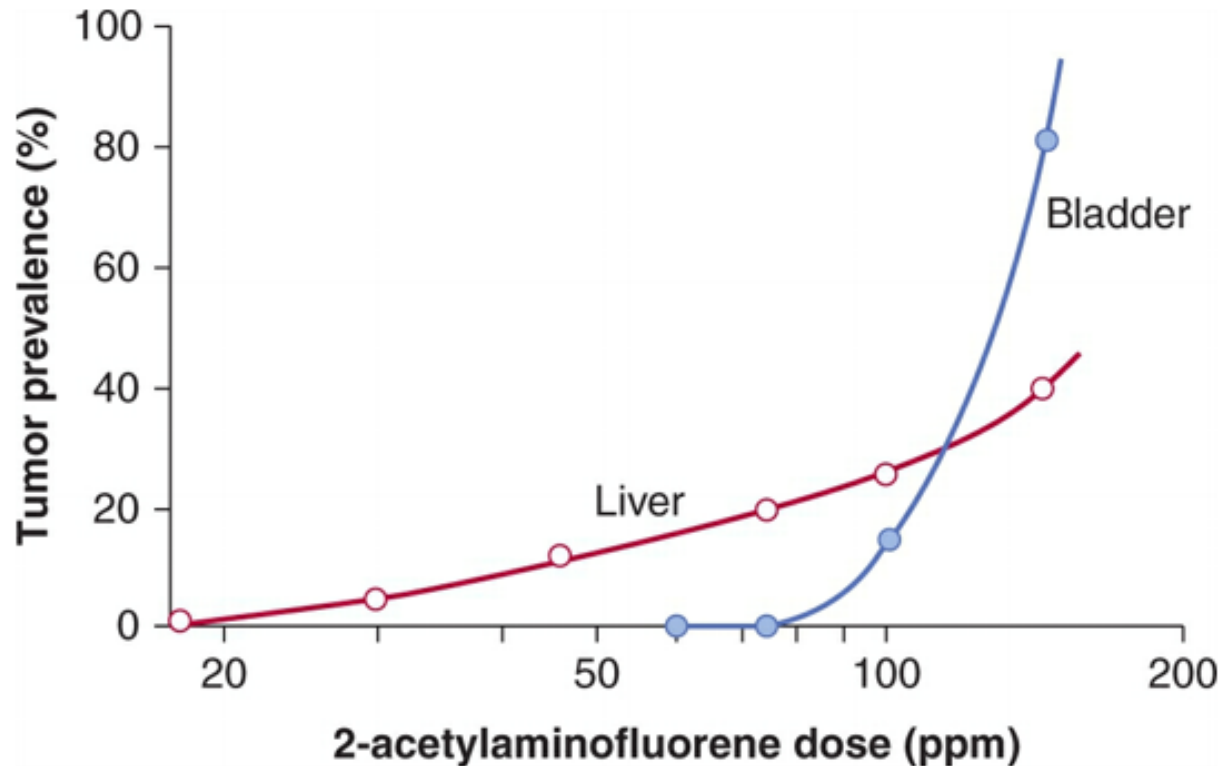
Benzo[a]pyrene (B[a]P)

Aromatic amines

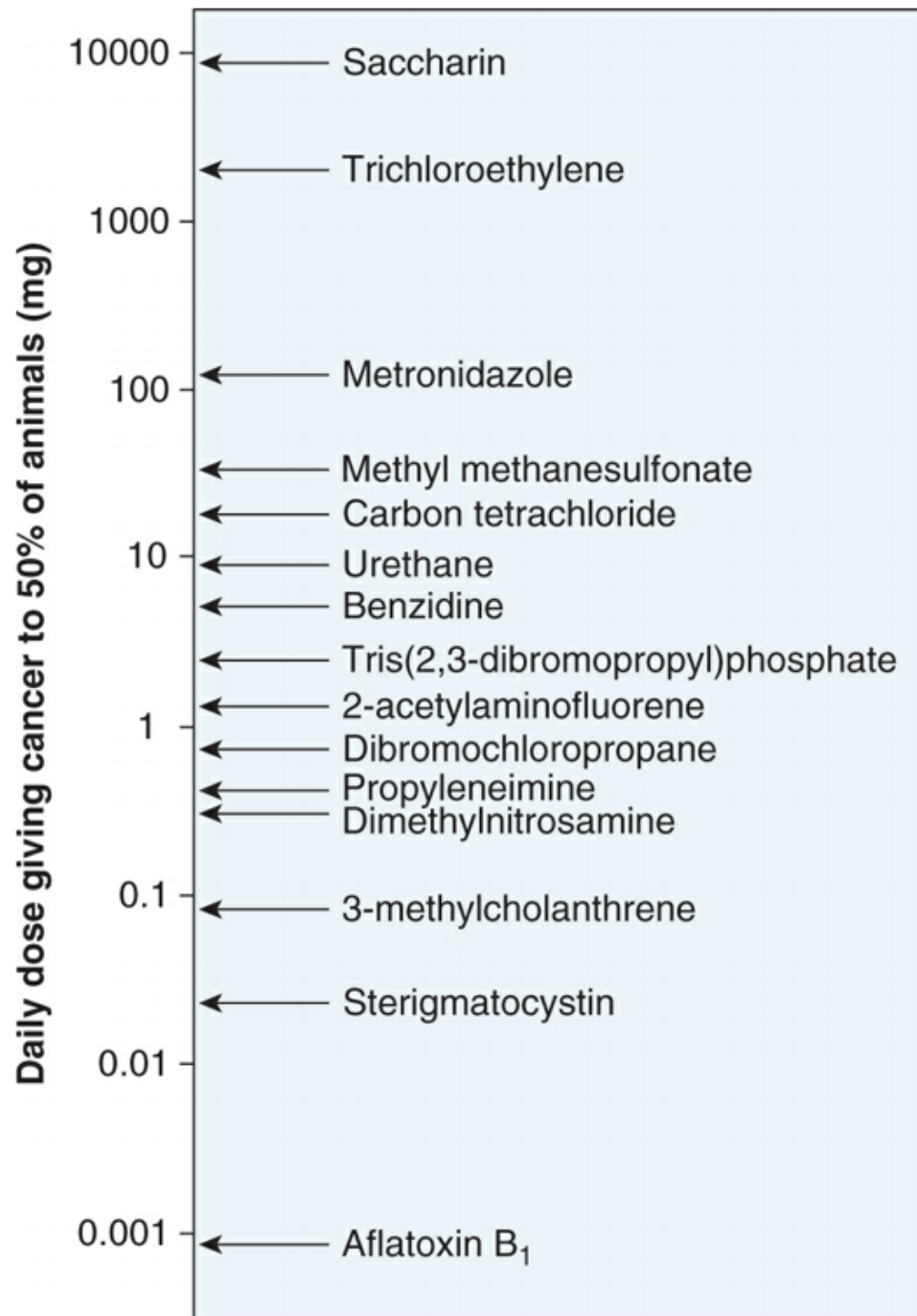


β-naphthylamine (βNA)

Curva dose-resposta do carcinogênico conforme o tecido



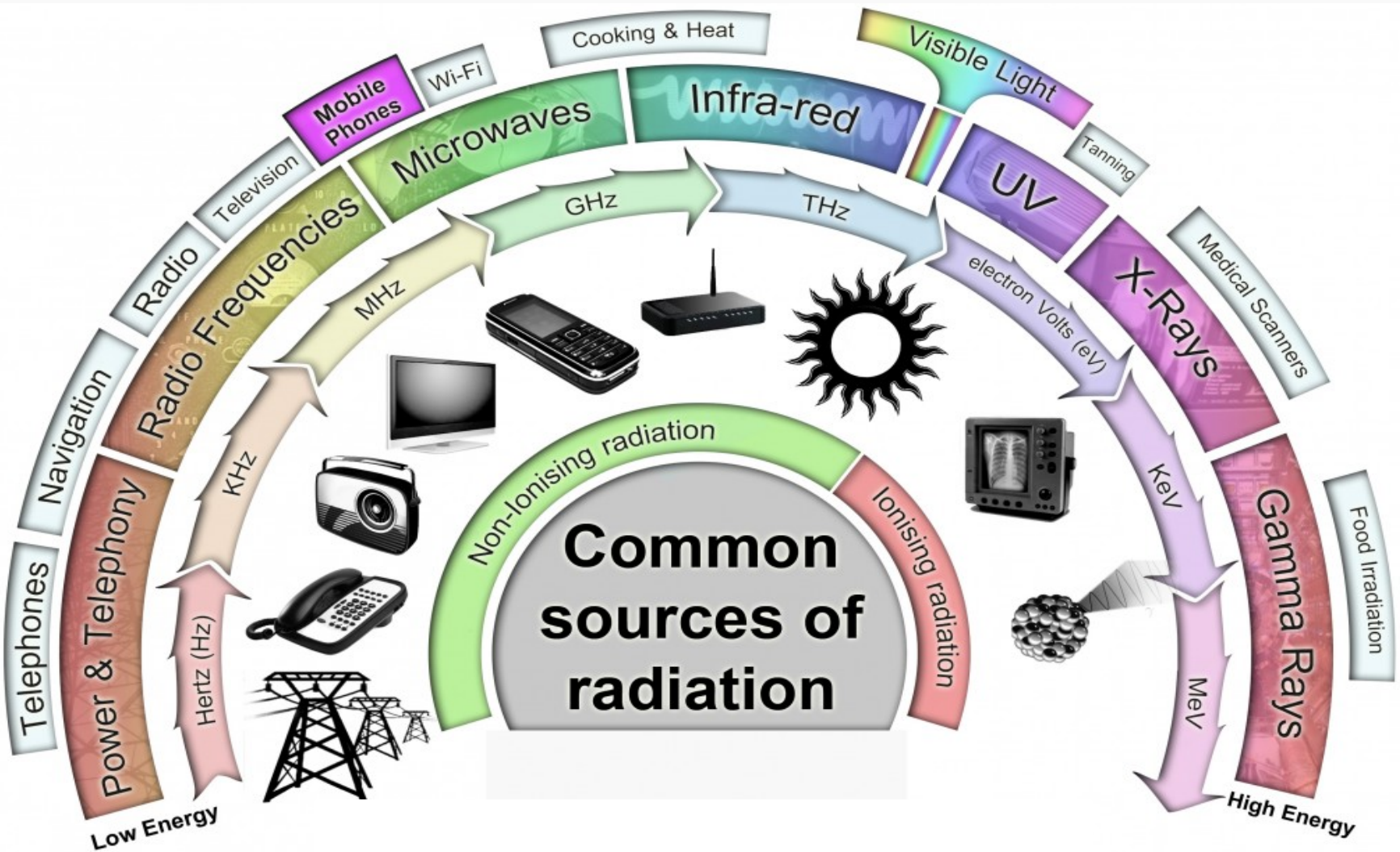
- A baixas doses induz câncer de fígado e à doses elevadas câncer de bexiga.



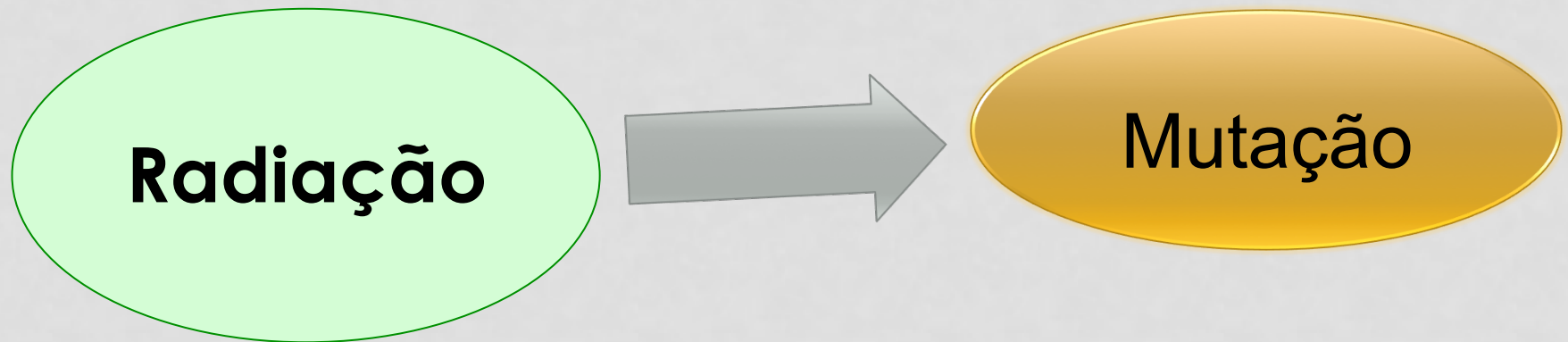
POTÊNCIA CARCINOGÊNICA DOS DIFERENTES QUÍMICOS

AGENTE MUTAGÊNICO FÍSICO

Quais os principais Agentes Físicos?

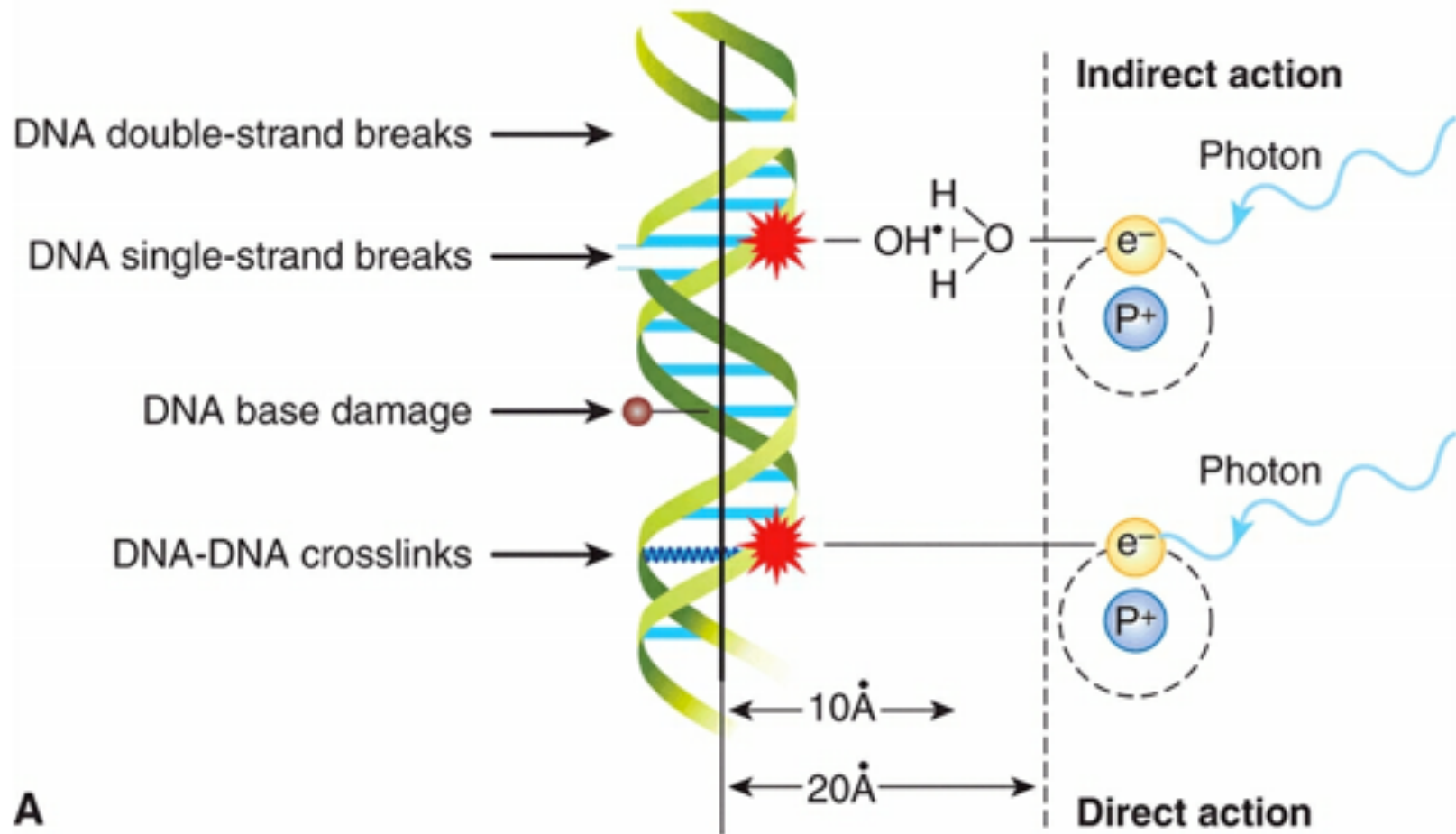


CONCEITO ASSOCIADO COM RADIAÇÃO



AGENTES FÍSICOS

Quais as principais alterações da radiação ionizante?



AGENTES FÍSICOS

Quais as principais alterações da radiação ionizante?

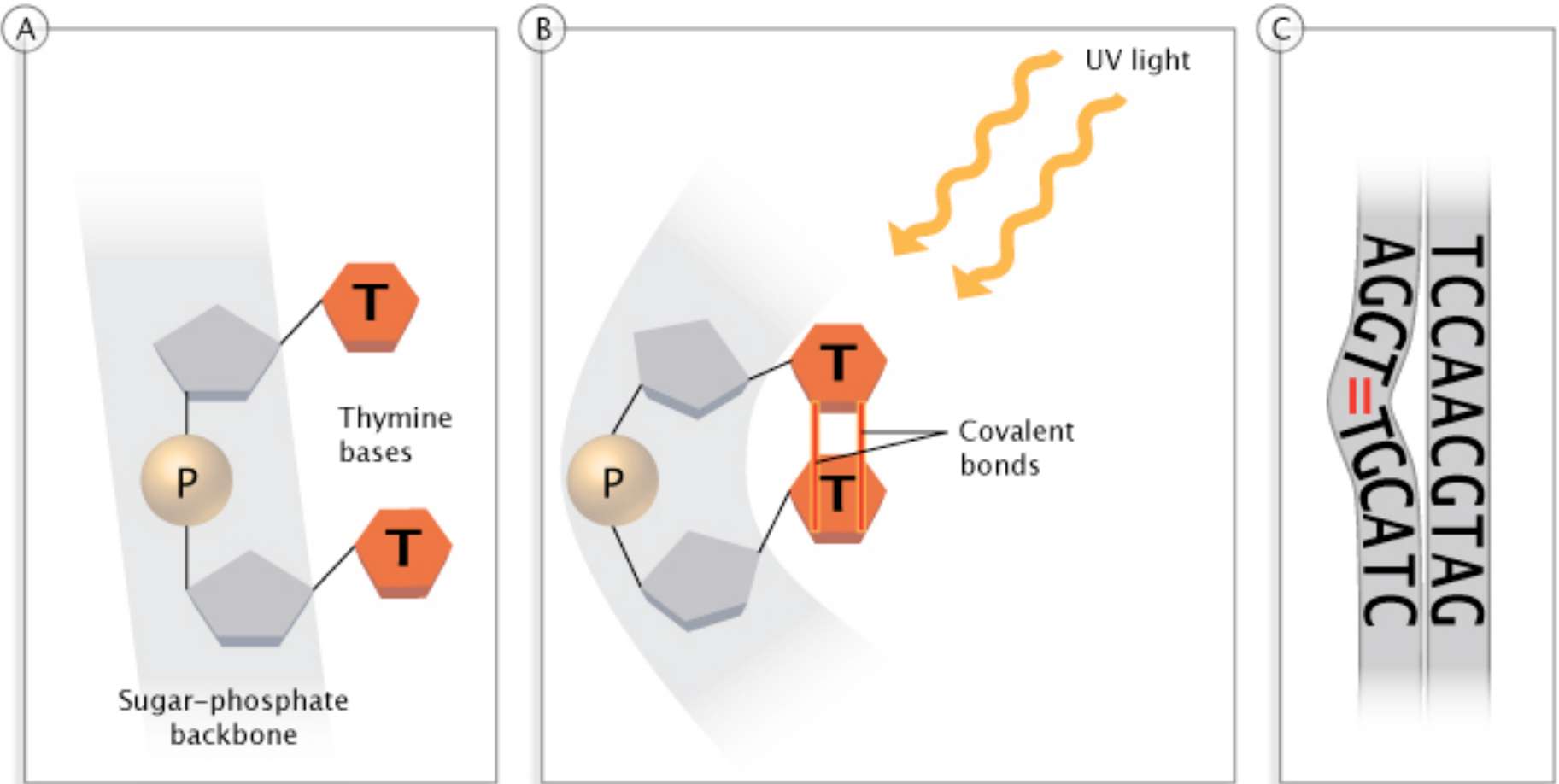
- ☐ Quebra da dupla-fita de DNA
- ☐ Rompimento de fita simples de DNA
- ☐ Dano na base de DNA
- ☐ Ligação intra-cadeia

AGENTES FÍSICOS

Quais as principais alterações da radiação não ionizante, como radiação ultra-violeta?

- ❑ Formação de dímeros de timina

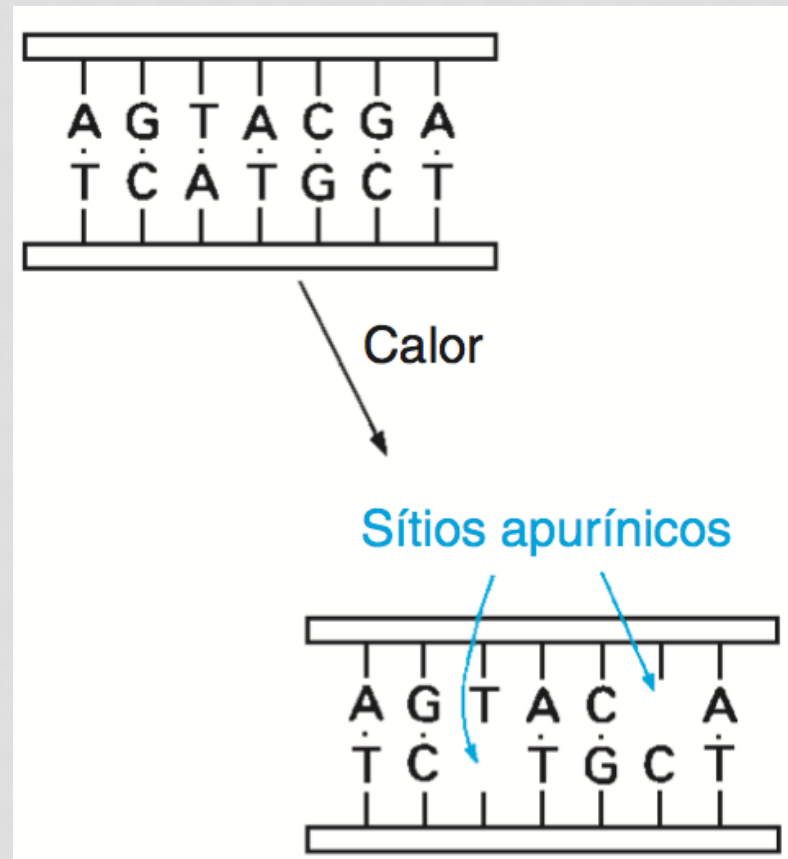
FORMAÇÃO DE DÍMEROS DE TIMINA



AGENTES FÍSICOS

Quais as principais alterações como resultado do calor?

- ❑ Formação de sítios apurínicos



BIBLIOGRAFIA

- 1. Thompson e Thompson, 2016 – 8ª Edição: Nussbaum, McInnes e Willard - Genética Médica – Capítulo 4: Diversidade Genética Humana: Mutação e Polimorfismo**
- 2. Schaefer e Thompson Jr, 2015 – 1ª Edição: - Genética Médica – Uma Abordagem Integrada – Capítulo 7: Mutação**