



UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO

**85 ANOS**  
1934 · 2019



# MUTAÇÕES ESPONTÂNEAS E AGENTES MUTAGÊNICOS

*Aparecida Maria Fontes*

Ribeirão Preto – Outubro/ 2020

[aparecidamfontes@usp.br](mailto:aparecidamfontes@usp.br)



Departamento de Genética  
USP Ribeirão Preto-FMRP

# BIBLIOGRAFIA:

- ❑ Genética Médica. Thompson & Thompson. Nussbaum, McInnes e Willard. (2016), 8ª Edição. Editora Elsevier.
- ❑ Concepts of Genetics. Klug, Cummings, Spencer, Palladino e Killian. (2019). 12ª Edição. Editora Pearson.
- ❑ Genetics: from gene to genomes. Hartwell, Goldberg, Fischer e Hood. (2018). 6ª Edição. Editora McGraw Hill.
- ❑ The Human Genome in Health and Disease: A Story of four letters. Samuelson, T. (2019). 1ª Edição. Editora CRC.
- ❑ Managing Health in the Genomic Era. Henrich, V.C.; Orlando, L.A. And Shirts, B.H. (2020). 1ª Edição. Editora Elsevier e Academic Press.

# Principais Tópicos

- 1. Por que estudar agentes mutagênicos?**
- 2. Agentes mutagênicos e efeitos desastrosos para humanidade**
- 3. Definição e causas de mutações espontâneas**
- 4. Definição e causas de mutações induzidas**
  - Agentes mutagênicos químicos**
  - Agentes mutagênicos físicos**
- 5. Exercícios**

# Por que estudar agentes mutagênicos na medicina?

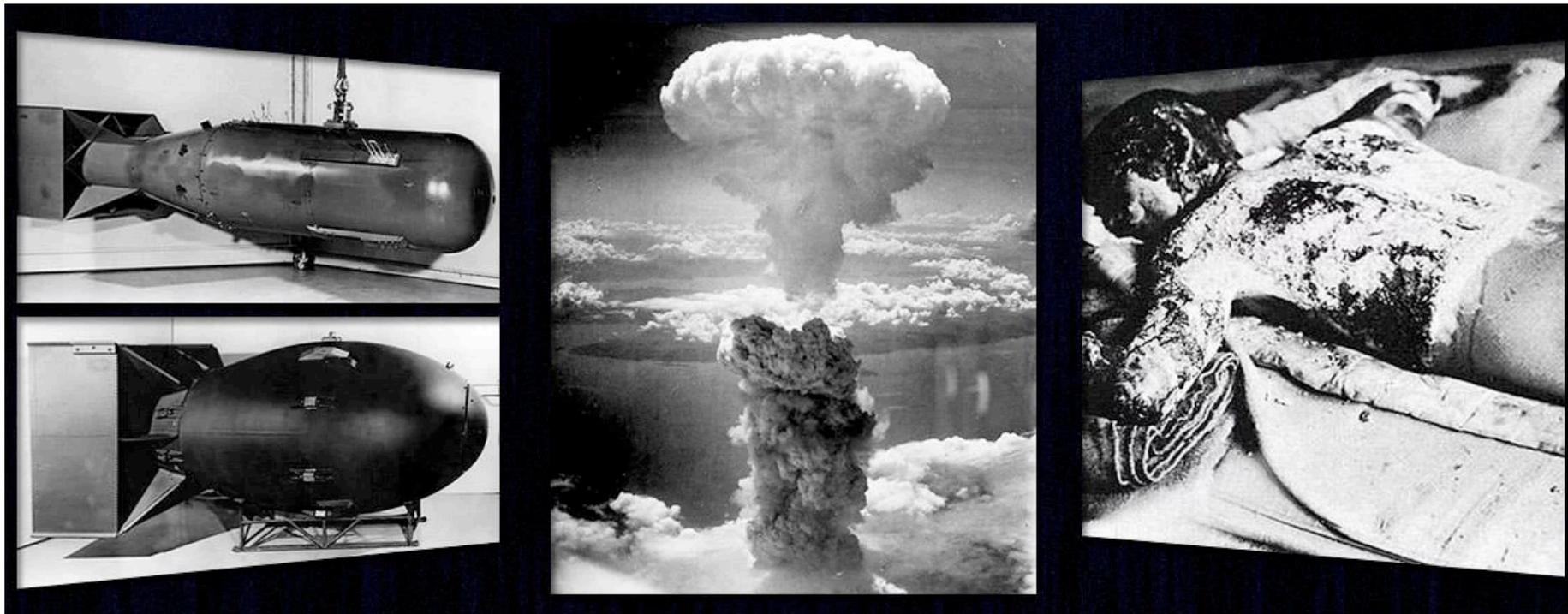
*Somos constantemente expostos a diferentes substâncias químicas, muitas vezes uma única substância per se não seja carcinogênica, mas a exposição a um conjunto dessas substâncias podem perturbar os mecanismos celulares que reconhecem essas exposições ambientais e as eliminam antes que ocorram danos ao DNA.*

*Agentes mutagênicos físicos, químicos e biológicos 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 por várias doenças genéticas.*

*É importante também o conhecimento de que somos expostos a agentes físicos e químicos na medicina e meio ambiente e existe um período de latência entre a exposição e o aparecimento de câncer ou outras doenças adquiridas.*

## 2. Efeitos desastrosos para humanidade

# Bomba Atômica em Hiroshima e Nagasaki, 1945

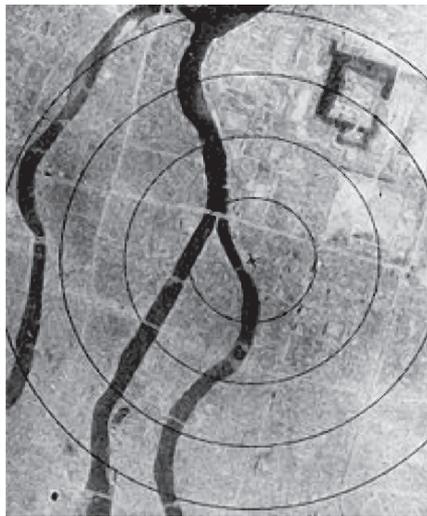


Isótopo radioativo: Urânio

Isótopo radioativo: Plutônio 239

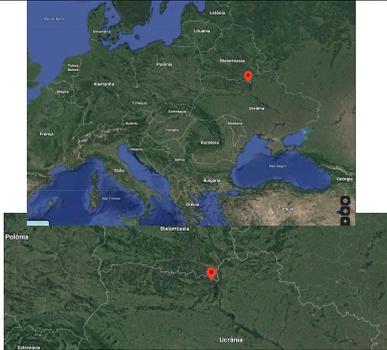
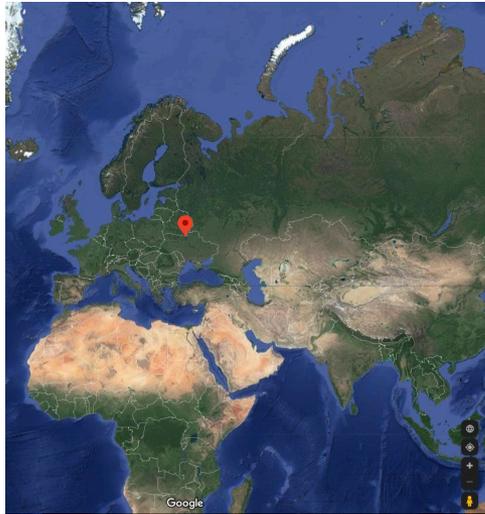
## 2. Efeitos desastrosos para humanidade

### Bomba Atômica em Hiroshima e Nagasaki, 1945



## 2. Efeitos desastrosos para humanidade

# Acidente de Chernobyl (Ucrânia), 1986



**400 x mais radiação que BA Hiroshima**

Explosão do 4º reator da Usina Nuclear Soviética e liberou material radioativo atingindo Inglaterra, Europa Ocidental, Escandinávia e União Soviética (US). Ocorreram 6.000 casos de câncer de tireóide, 4.000 fatalidades na US e entre 9.000 a 16.000 mortes na Europa.

## 2. Efeitos desastrosos para humanidade

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



**Mariana: área total = 1469 hect. (663 km de rios e córregos), destruição do Rio doce e lama no mar.**



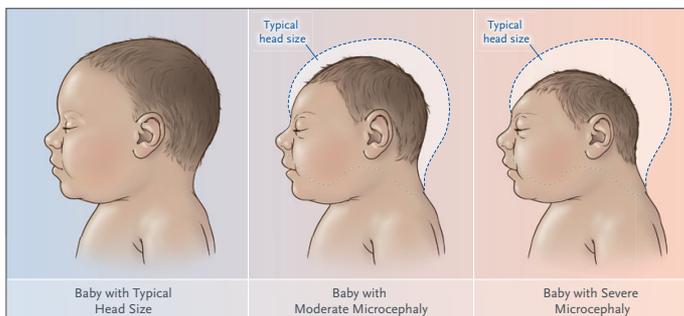
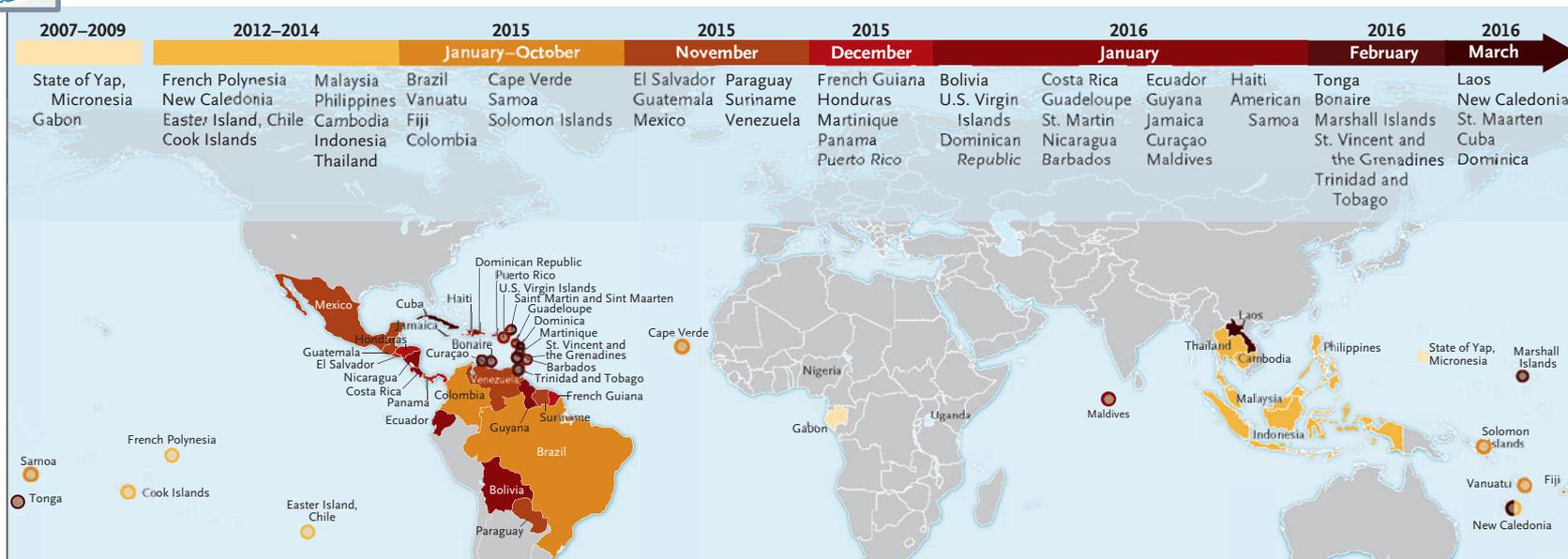
**Brumadinho: área total 290 hect., contaminação de recursos hídricos e solo. Liberação de 12 milhões de m<sup>3</sup> de rejeitos**

**Após 1 ano (2020) – níveis de Mn, Cu e Fe em 21 cidades muito acima dos limites da legislação.**

# 2. Efeitos desastrosos para humanidade



## Vírus Zika – 2015 e 2016



Em 2015, o vírus foi identificado no Brasil e espalhou-se para muitas cidades da América do Sul. Há evidências substanciais que o vírus Zika pode ser transmitido da mãe para o feto durante a gestação.

Foi observado um aumento do número de bebês com microcefalia nas mesmas cidades onde o vírus foi relatado (~4.300 casos de microcefalia).

### 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## **Mudanças na sequência de nucleotídeos do DNA que aparecem naturalmente.**

Não existem agentes específicos associados com sua ocorrência.

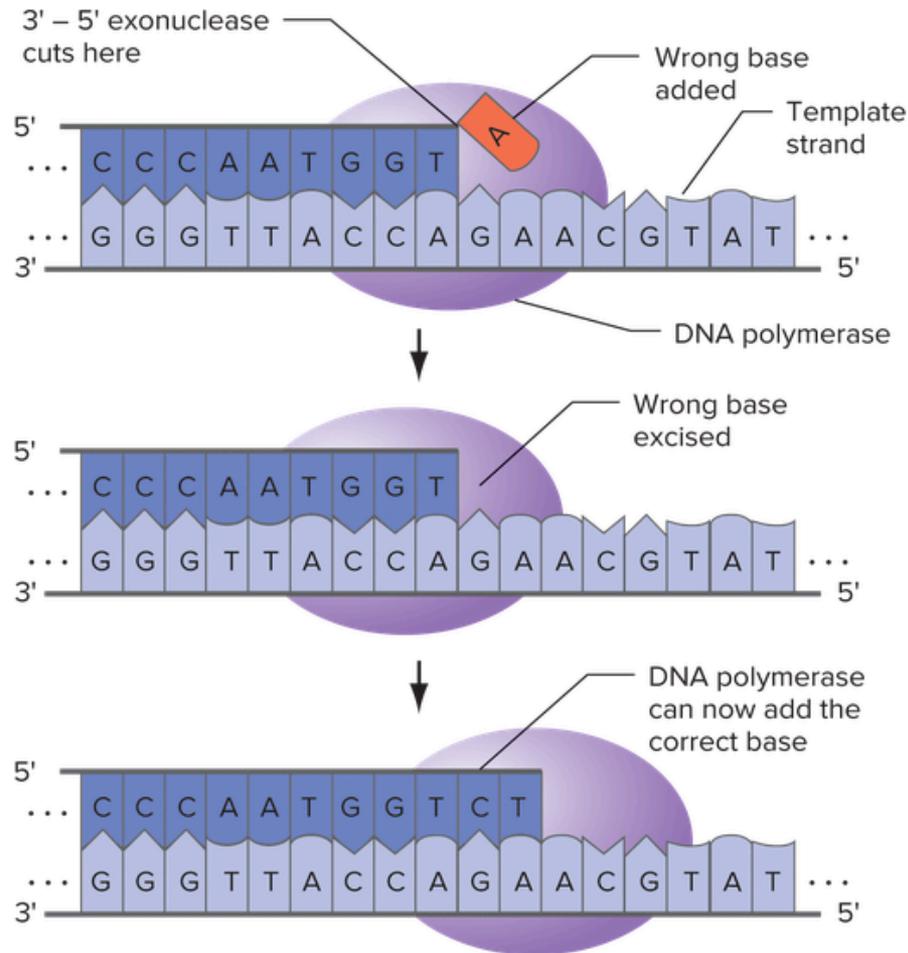
Podem surgir como resultado de um processo biológico ou químico no organismo que altera a estrutura das bases nitrogenadas.

# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

1. Erros na replicação do DNA
2. Mudanças tautoméricas
3. Depurinação e desaminação
4. Danos oxidativos
5. Elementos transposons

# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.1. Erros na replicação do DNA e função “*proof reading*” da DNA polimerase



## 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

### 3.1. Erros na replicação do DNA e função “*proof reading*” da DNA polimerase

Devido a atividade *proof reading* da DNA polimerase erros são muito raros: 1 a cada  $10^8$  bp.

Genoma haplóide:  $3 \times 10^9$  bp. Cada gameta tem cerca de 30 mutações e cada criança tem cerca de 60 mutações.

Esse número inclui todas as mudanças no DNA e são raras aquelas que têm influência no fenótipo.

## 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

### 3.1. Erros na replicação do DNA e função “*proof reading*” da DNA polimerase

Avanços na tecnologia do sequenciamento do genoma tem permitido o sequenciamento do genoma haplóide de um único espermatozóide.

Nesse estudo foi analisado o genoma de 100 espermatozoides de um indivíduo mostraram que a taxa de mutação no gameta masculino é  $2-4 \times 10^{-8}$  pb DNA .

O espermatozóide carrega mais mutações do que o ovócito porque são necessárias mais divisões celulares para produção do gameta masculino do que o gameta feminino apresentando oportunidades para a ocorrência de mutações.

## 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

### 3.1. Erros na replicação do DNA e função “*proof reading*” da DNA polimerase

Há uma estimativa de que aos 13 anos o espermatozóide apresentou 36 divisões mitóticas e na idade de 45 anos 770 divisões mitóticas.

Para mulher, praticamente todos os ovócitos primários estão produzidos ao nascimento e há uma estimativa de somente 24 divisões celulares são necessárias para produção de todos ovócitos.

A célula masculina por outro lado apresenta divisões celulares ao longo de toda vida.

## 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

### 3.1. Erros na replicação do DNA e função “*proof reading*” da DNA polimerase

Efeitos da idade paterna estão associados as mutações por substituição e *indel*.

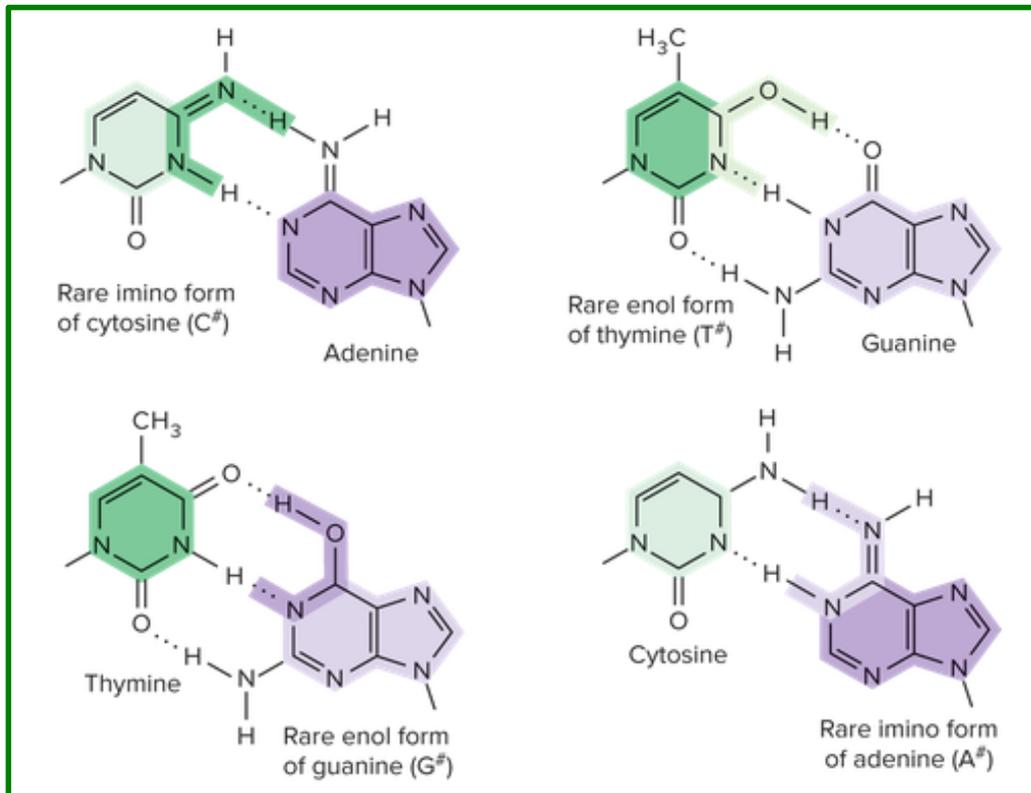
Efeitos da idade materna estão mais associados a erros duante a segregação cromossômica na meiose, levando a um número anormal de cromossomos.

# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.2. Mudanças tautoméricas

Cada uma das quatro bases nitrogenadas apresentam formas tautoméricas que apresentam estruturas químicas distintas.

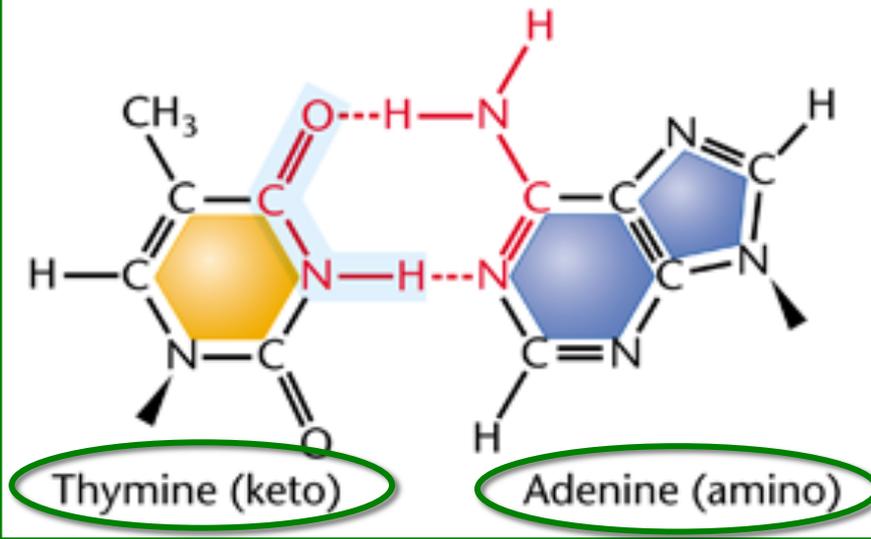
Como consequência a DNA polimerase irá inserir uma bases distinta na fita filha durante a síntese do DNA.



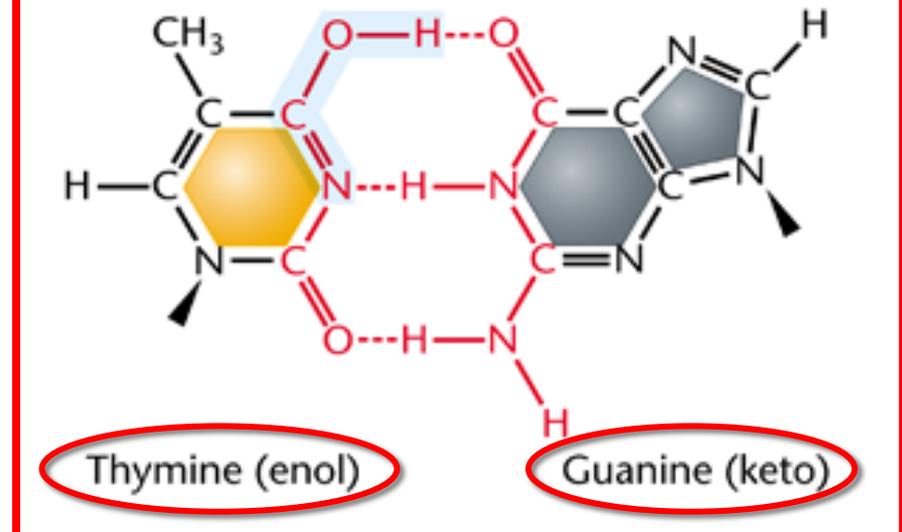
# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.2. Mudanças tautoméricas

(a) Standard base-pairing arrangements

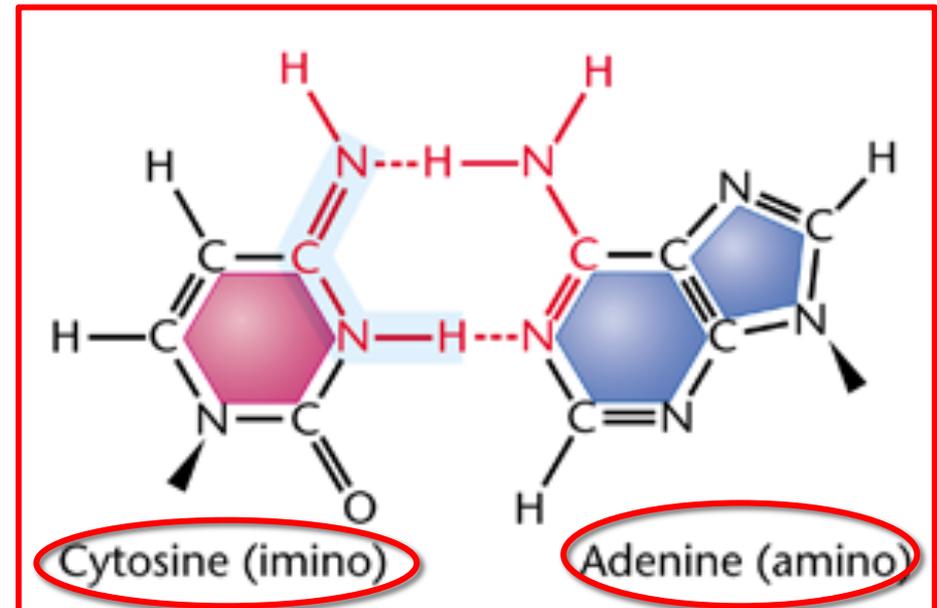
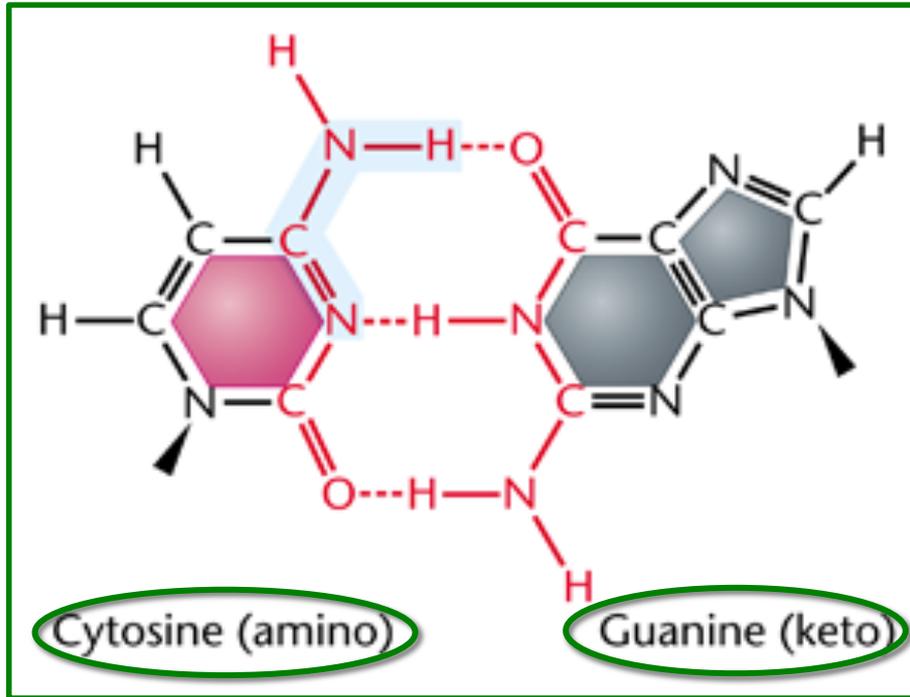


(b) Anomalous base-pairing arrangements



# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.2. Mudanças tautoméricas



# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.3. Depurinação e Desaminação

### Depurinação

Consiste na hidrólise espontânea da ligação glicosídica entre a base adenina ou guanina (purinas) e o açúcar desoxiribose levando a perda das bases purinas no DNA.

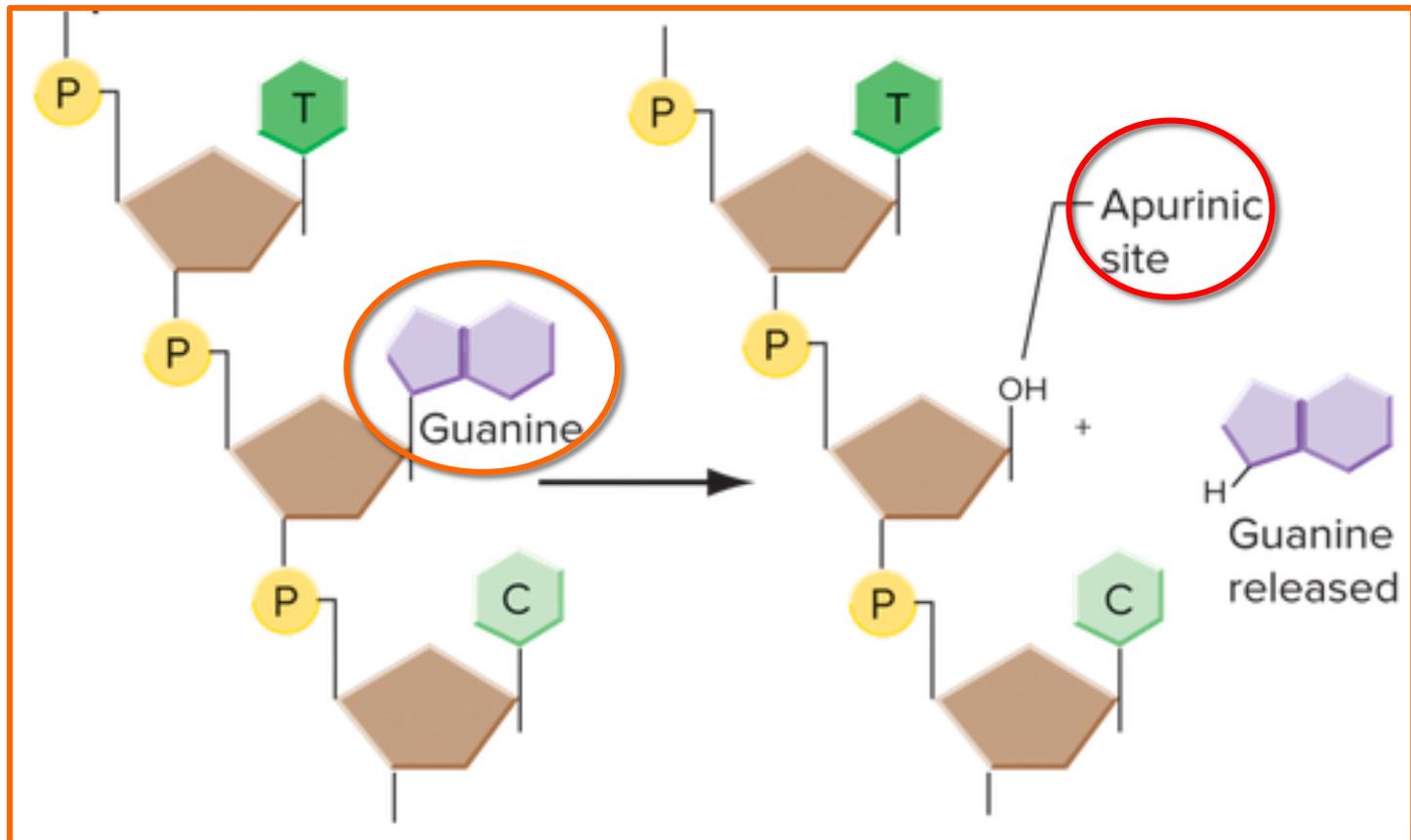
O resultado é um sítio apurínico.

Há uma estimativa de cerca de 1.000 desse tipo de hidrólise/ h em cada célula humana.

# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.3. Depurinação e Desaminação

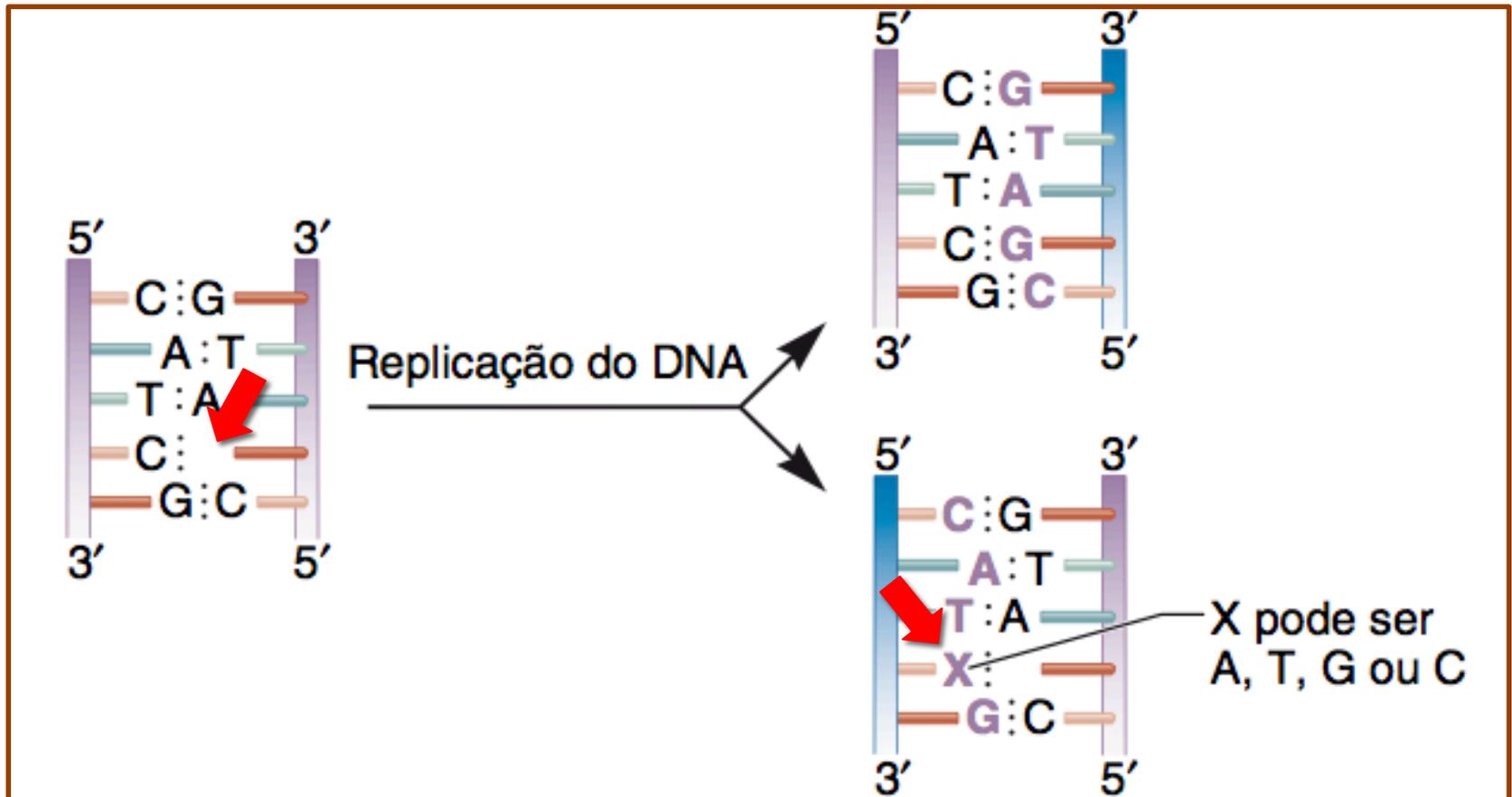
### Depurinação



# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.3. Depurinação e Desaminação

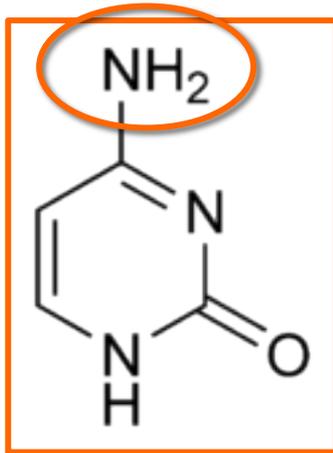
### Depurinação



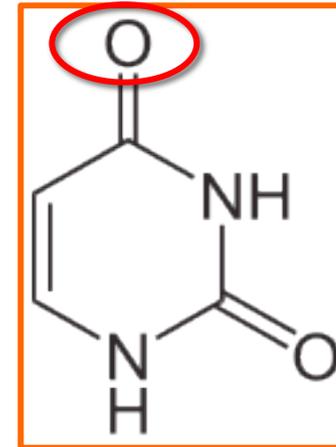
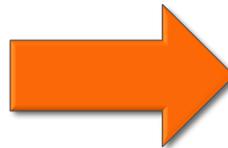
# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.3. Depurinação e Desaminação

### Desaminação



Citosina (pirimidina)

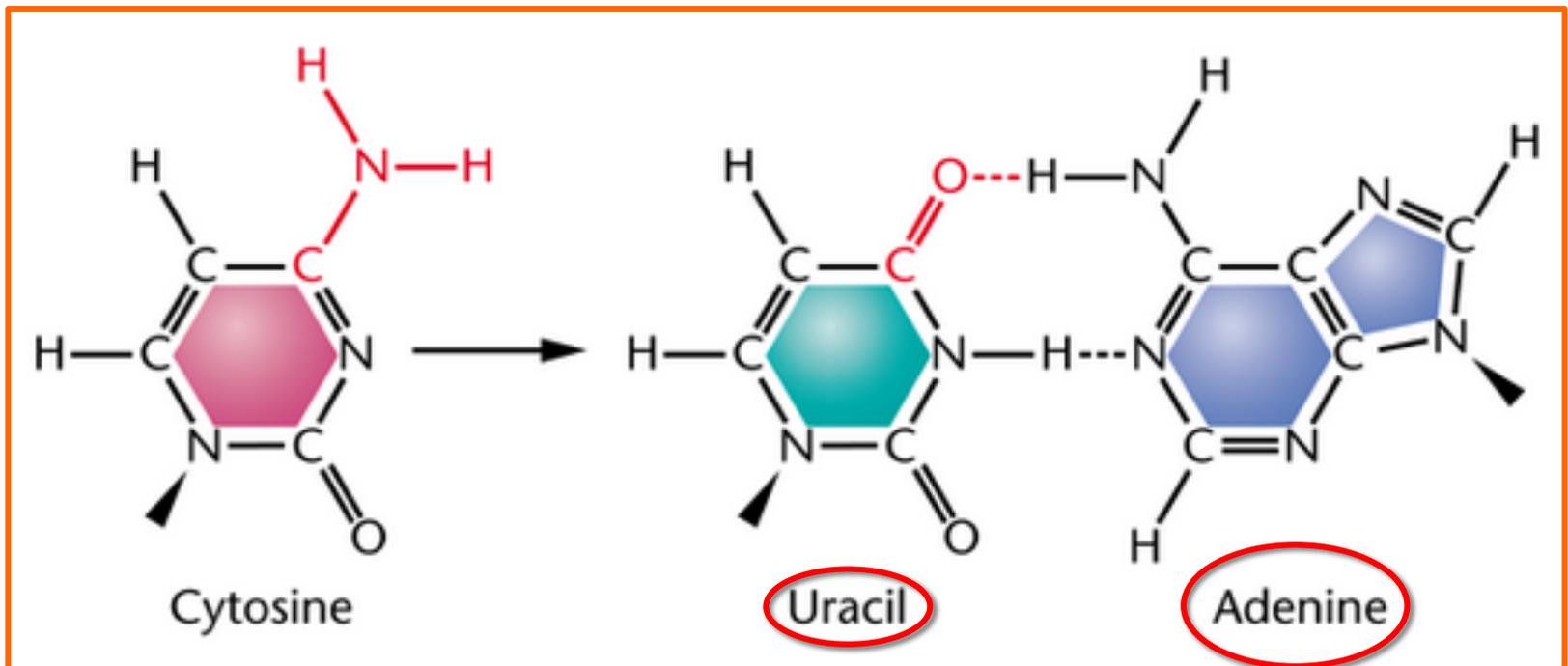


uracil (pirimidina)

# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.3. Depurinação e Desaminação

### Desaminação

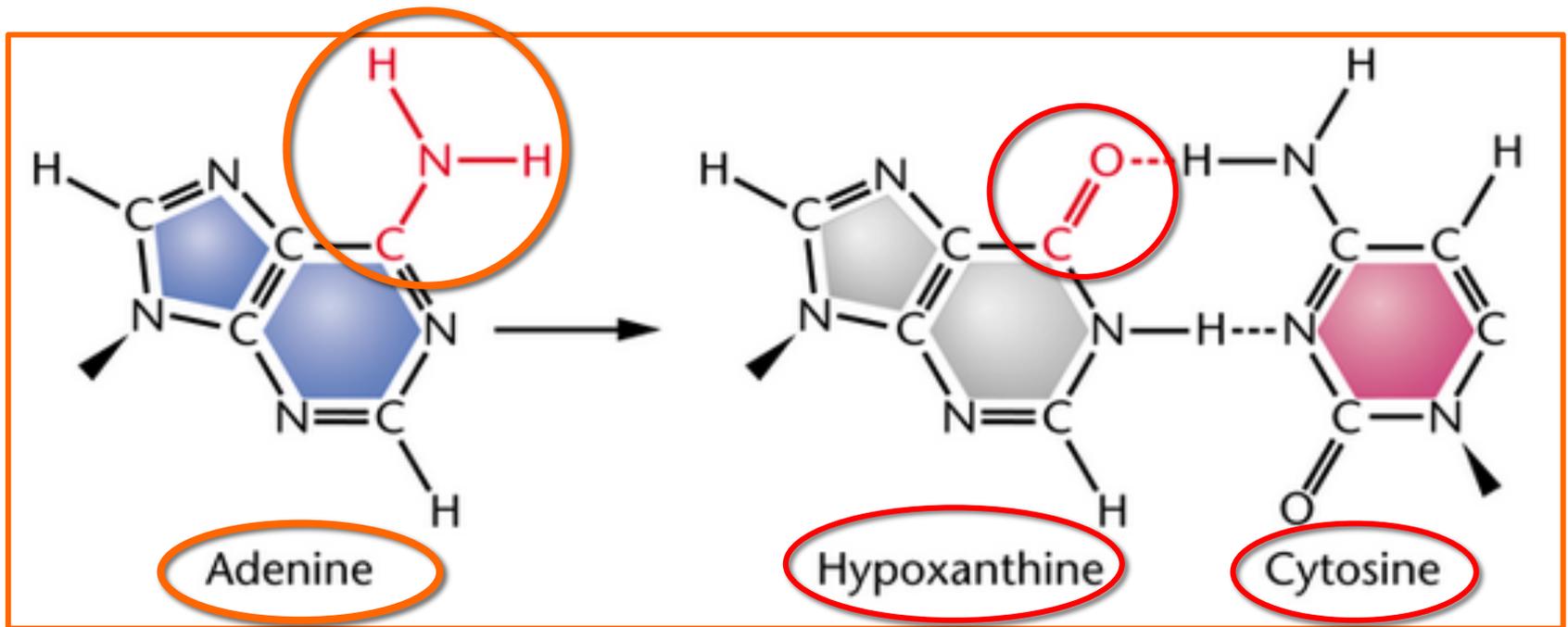




# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.3. Depurinação e Desaminação

### Desaminação

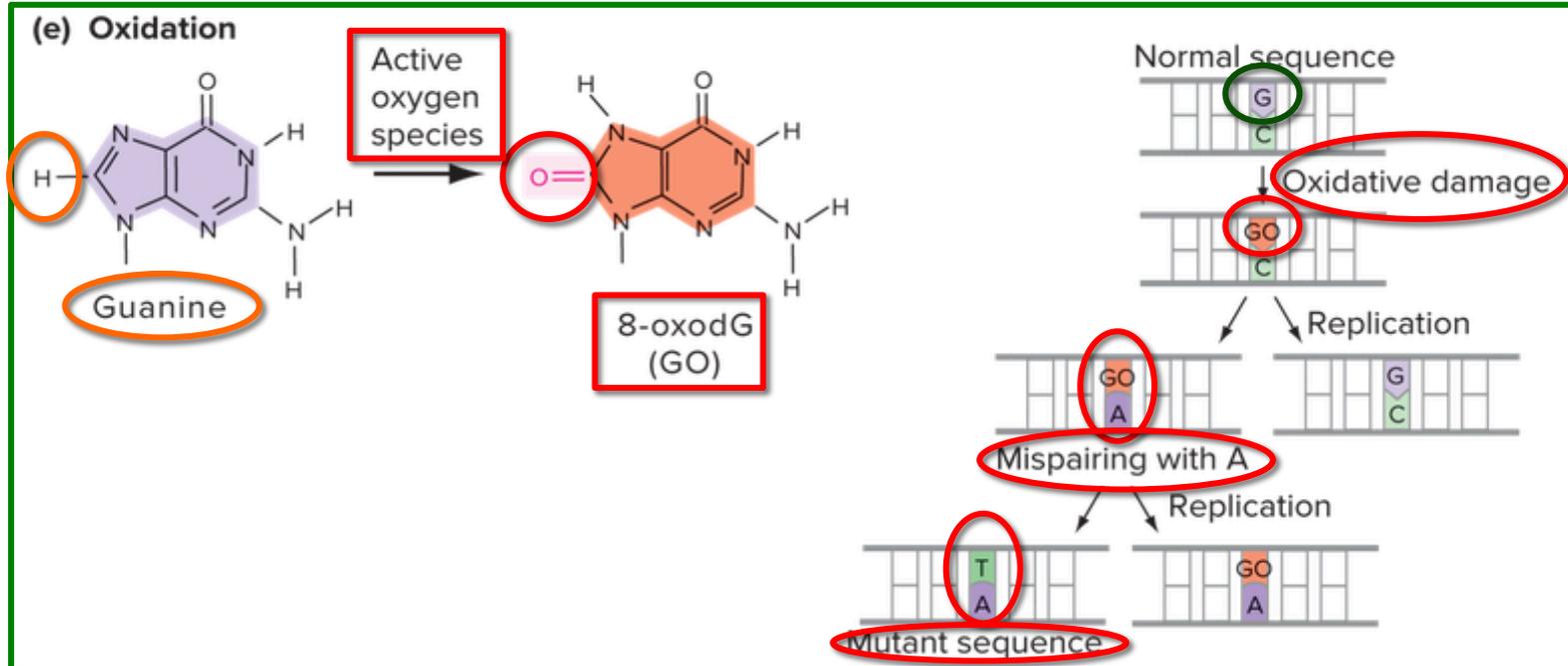


# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.4. Danos Oxidativos

Espécies reativas de oxigênio podem alterar quimicamente as bases nitrogenadas. Ex. modificação da guanina

Como consequência ocorrerá o pareamento errôneo pela DNA polimerase durante a síntese da fita-filha.



# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.4. Danos Oxidativos

Espécies reativas de oxigênio são derivados do oxigênio molecular ( $O_2$ ).

Incluem: peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e radicais hidroxila ( $\cdot OH$ ) e podem danificar o DNA.

Podem ser gerados durante a respiração aeróbica normal e metabolismo celular.

# 3. Definição e Causas de Mutações Espontâneas

## 3.5. Transposons

Embora, em geral, os transposons encontrem-se inativos eles apresentam o potencial de moverem-se e terem efeitos mutagênicos.

Parte 2 da Aula 3: Exemplo de Hemofilia A.

Em 2009 foi realizada uma estimativa de que pelo menos 11 doenças humanas são devido a inserções de elementos LINE.

## 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

### **Mudanças na sequência de nucleotídeos do DNA após a exposição a agentes mutagênicos**

Existem agentes específicos associados com sua ocorrência.

Podem ser componentes naturais de nosso meio ambiente: toxinas de fungos, raios cósmicos, luz UV etc..

Podem ser poluentes industriais, raios X utilizados na medicina, substâncias químicas, gases, entre outros.

## **4. Definição e Causas de Mutações Induzidas**

**Mudanças na sequência de nucleotídeos do DNA após a exposição a agentes mutagênicos**

**1. Análogos de bases**

**2. Agentes alquilantes, intercalantes e formadores de adutos**

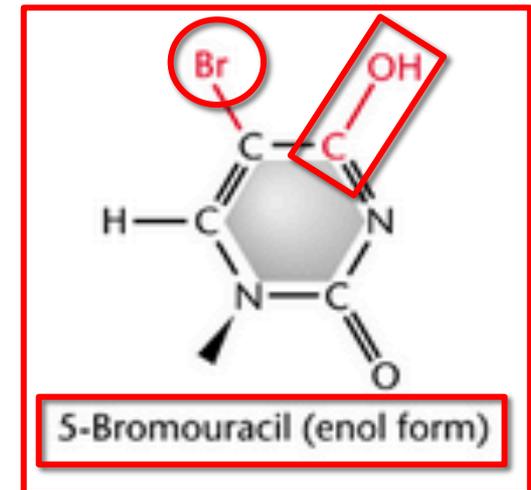
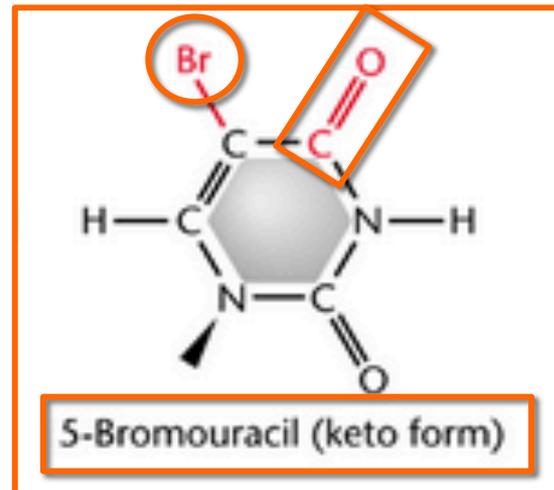
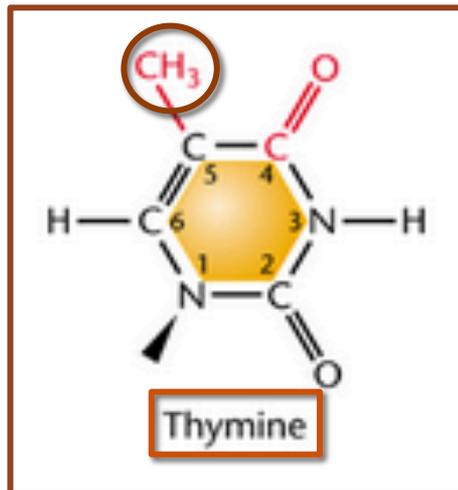
**3. Luz ultravioleta**

**4. Radiação ionizante**

# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

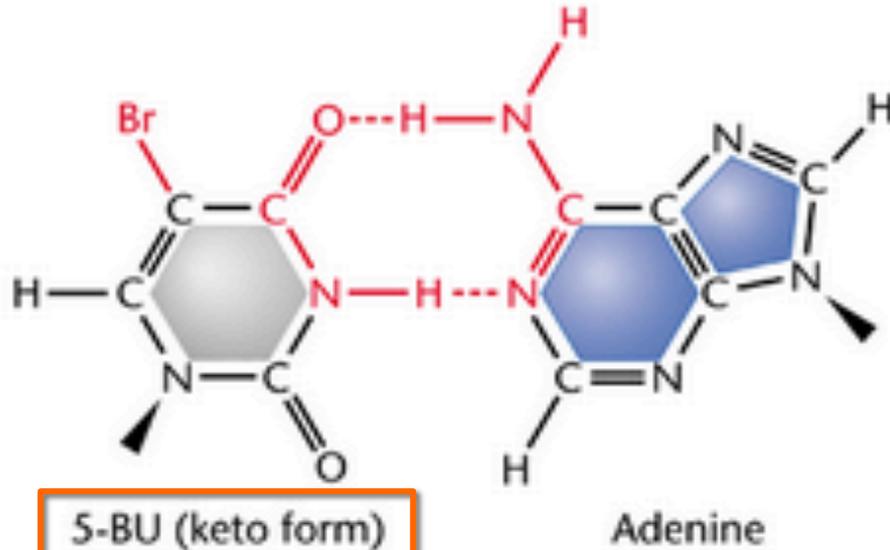
## 4.1. Análogos de bases

Substâncias químicas mutagênicas com estrutura semelhante à qualquer outra base nitrogenada e podem substituir as purinas ou pirimidinas durante síntese do DNA.

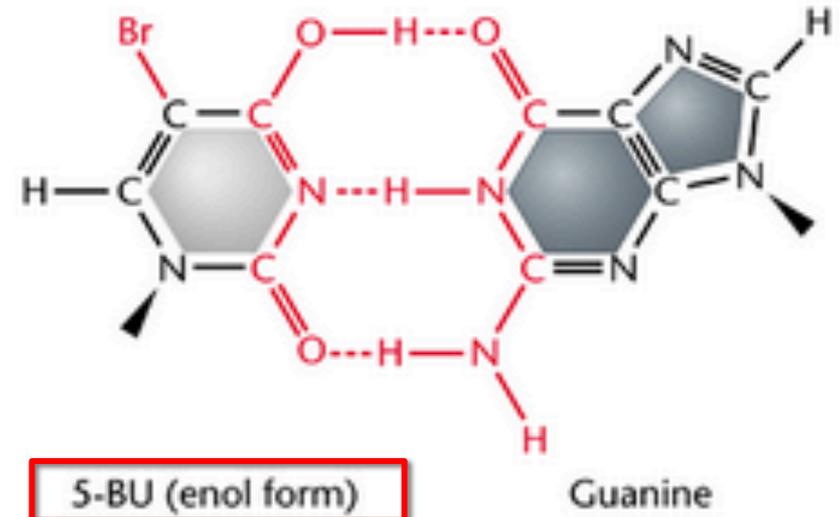


# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.1. Análogos de bases



**Pareamento normal**



**Pareamento atípico**

# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.2. Agentes alquilantes, intercalantes e formadores de adutos

### Agentes alquilantes

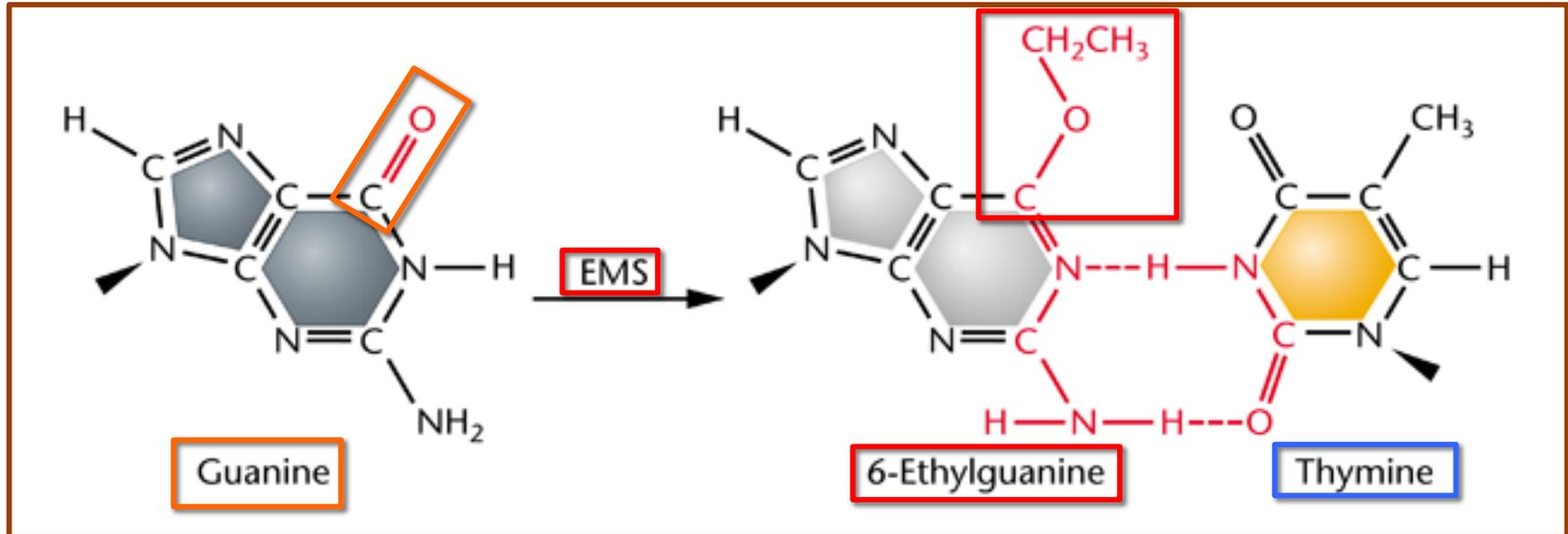
Substâncias químicas mutagênicas que transferem radicais alquil-eletrofílicos ( $R-CH_3-CH_2$ ) às bases de DNA.

Em geral, esses grupos são adicionados às bases guanina, que irão induzir um pareamento atípico durante a replicação do DNA.

# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.2. Agentes alquilantes, intercalantes e formadores de adutos

### Agentes alquilantes



**Etilmetil-sulfonato**

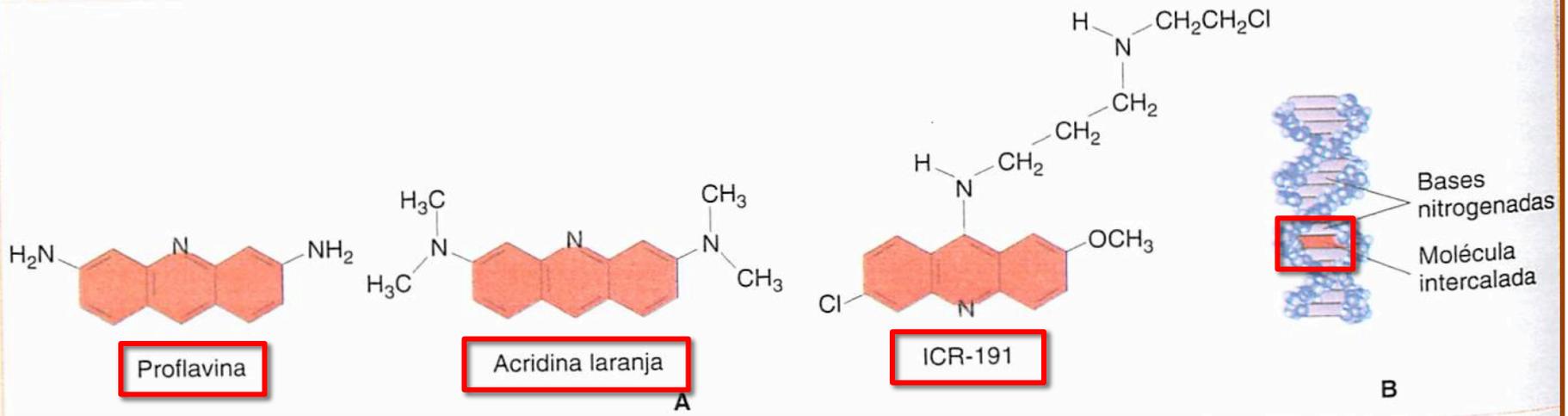
**Pareamento atípico**

# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.2. Agentes alquilantes, intercalantes e formadores de adutos

### Agentes intercalantes

Substâncias químicas mutagênicas que se intercalam entre as bases do DNA resultando em uma distorção da dupla-hélice.



# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.2. Agentes alquilantes, intercalantes e formadores de adutos

### Terapia anti-tumoral

Exemplos: doxorubicina utilizada no tratamento de linfoma de Hodgking e dactinomicina utilizada no tratamento de sarcoma.

Como as **células neoplásicas** apresentam um **potencial proliferativo maior** que as células normais, **os efeitos de danos no DNA nessas células** por essas substâncias químicas são **maiores**, quando comparada com as células saudáveis.

Também, as células normais têm **os sistemas de reparo intactos**, o que **minimiza** a susceptibilidade a essas terapias.

# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.2. Agentes intercalantes

### Uso no laboratório

Exemplo, brometo de etídeo é uma substância fluorescente utilizada no laboratório de genética molecular para corar o DNA e visualizá-lo após a exposição à luz UV.

É um agente intercalante mutagênico e deve ser utilizado com cuidado.

# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.2. Agentes alquilantes, intercalantes e formadores de adutos

### Agentes formadores de adutos

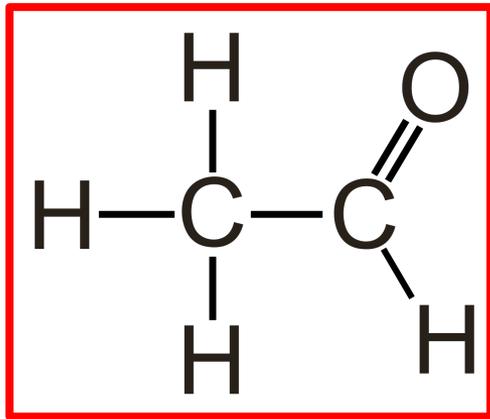
Aduto de DNA é uma substância química que liga-se covalentemente no DNA, altera sua conformação e interfere na replicação e reparo de DNA.

Exemplos: **acetaldeído** (componente da fumaça do cigarro) e **aminas heterocíclicas** geradas durante o cozimento de carnes como carne de boi, frango e peixe.

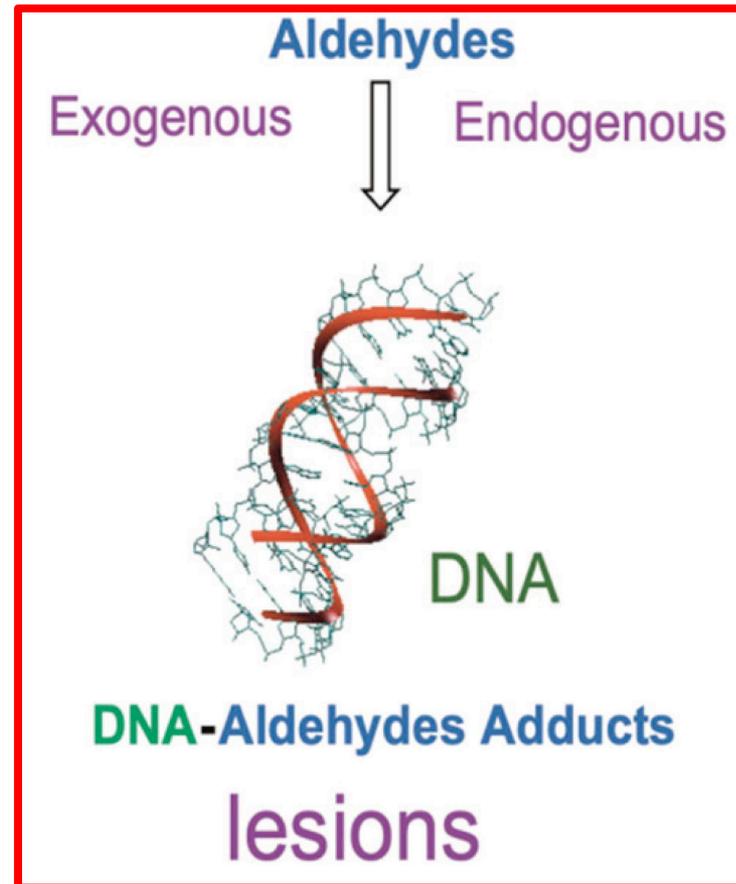
# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.2. Agentes alquilantes, intercalantes e formadores de adutos

### Agentes formadores de adutos



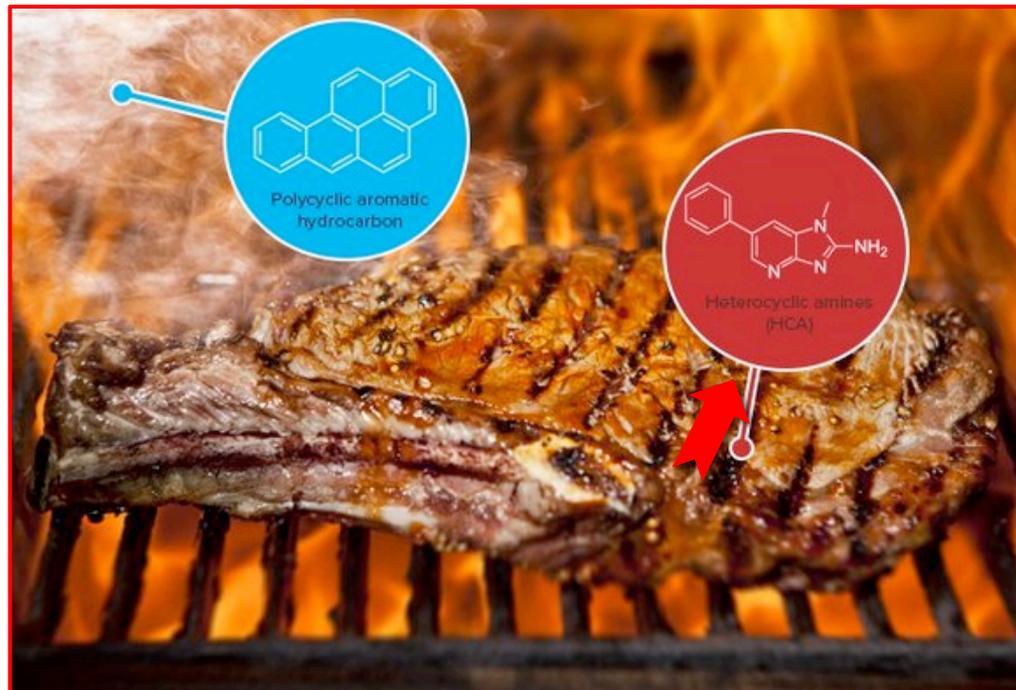
**Acetaldeído**  
**(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)**



# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.2. Agentes alquilantes, intercalantes e formadores de adutos

### Agentes formadores de adutos

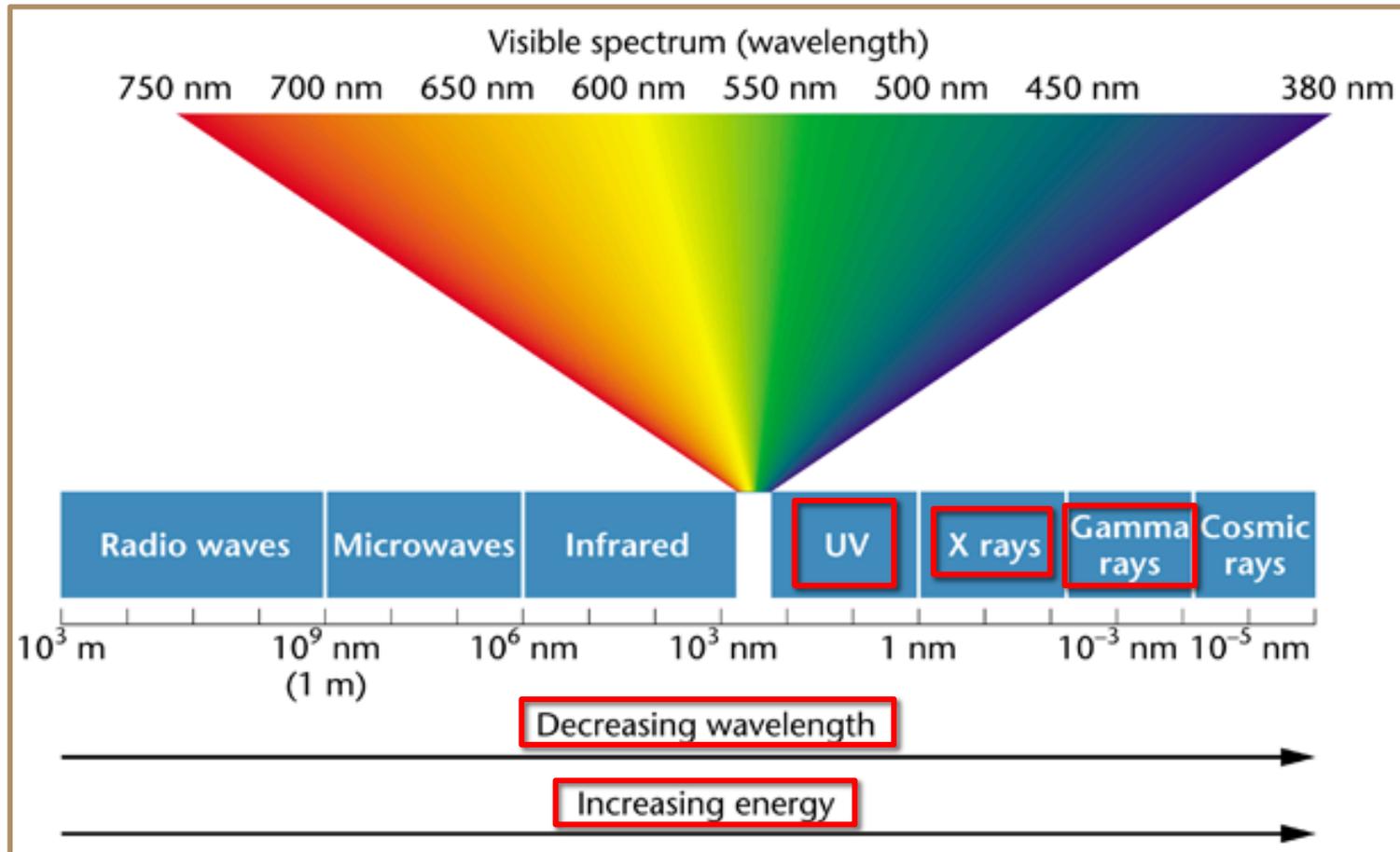


### Aminas heterocíclicas

# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.3 e 4.4. Luz ultravioleta e radiação ionizante

### Regiões do espectro eletromagnético e seus respectivos comprimentos de onda





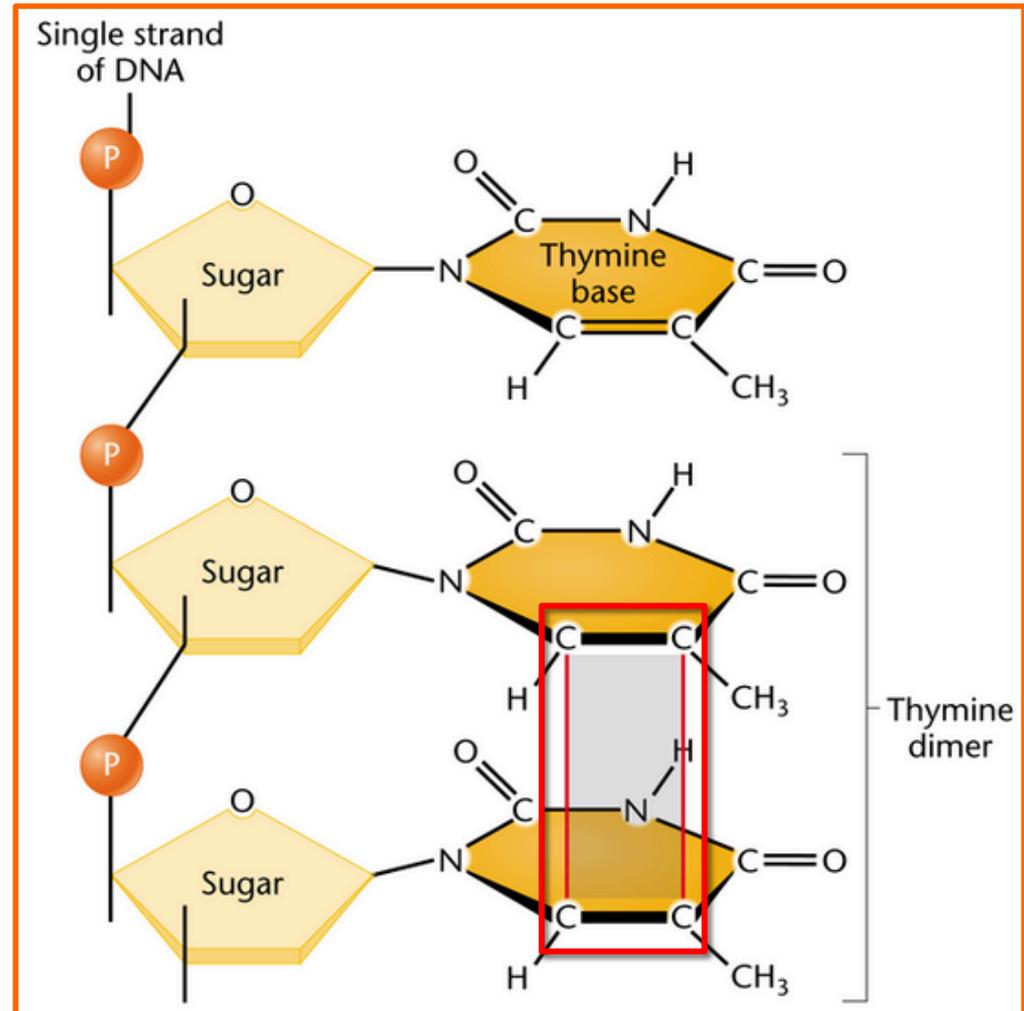
# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.3 e 4.4. Luz ultravioleta e radiação ionizante

### Luz ultravioleta

O principal efeito da radiação UV no DNA é a formação de **dímeros de pirimidina**.

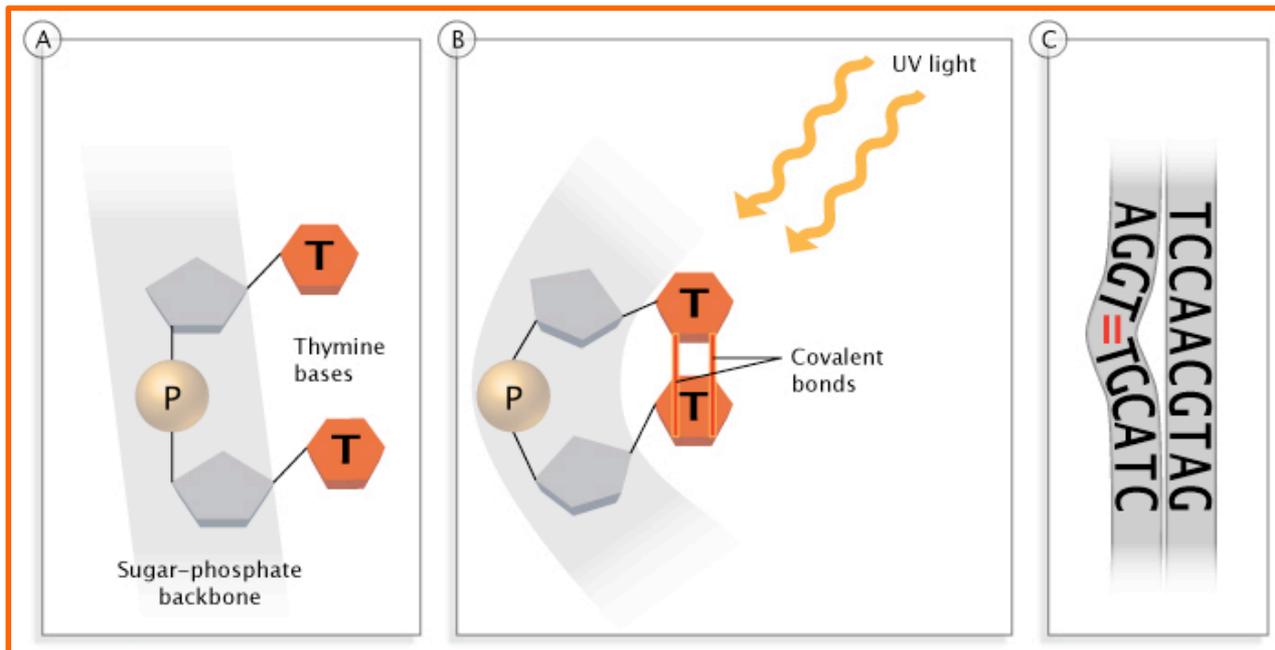
**Em vermelho**, ligação covalente entre dois átomos de carbono de **duas bases timina** adjacentes.



# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.3. Luz ultravioleta e radiação ionizante

### Luz ultravioleta

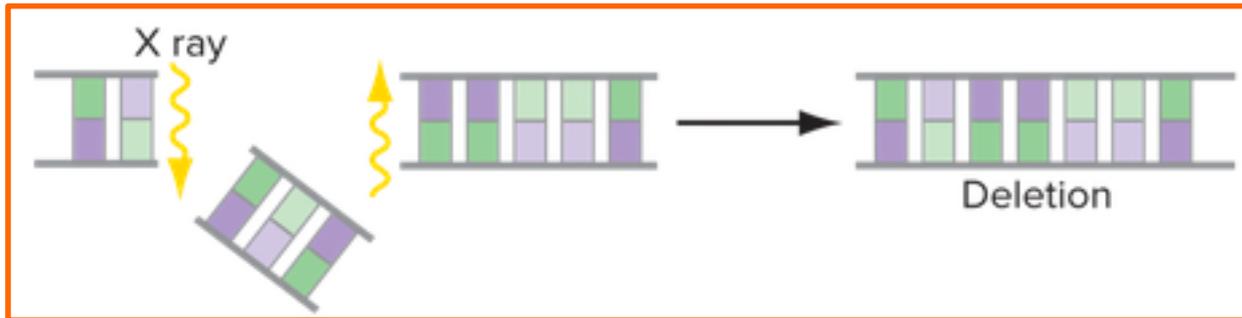


Há uma distorção na dupla-hélice e como resultado a DNA polimerase tem dificuldades de replicar o DNA com dímeros de pirimidina, ocorrendo erros na replicação.

## 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

### 4.3 e 4.4. Luz ultravioleta e radiação ionizante

#### Radiação ionizante



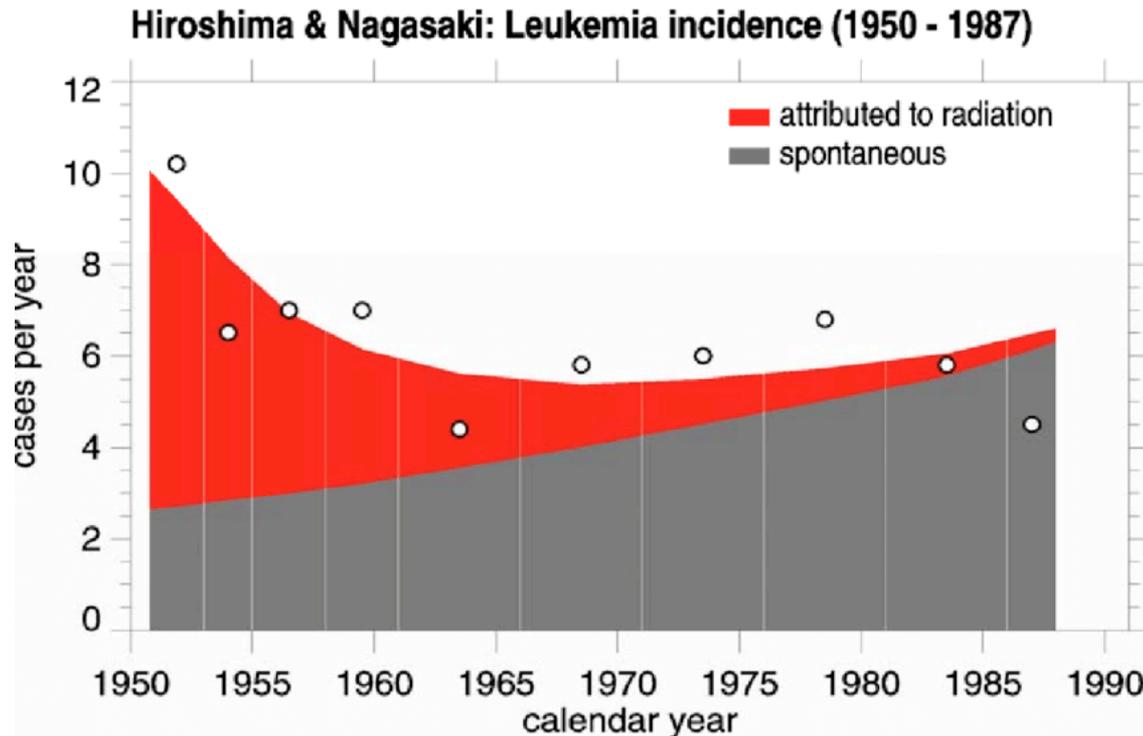
A principal consequência da radiação ionizante é a quebra da dupla-hélice de DNA.

A radiação ionizante pode romper a integridade dos cromossomos e produzir diferentes aberrações cromossômicas, como deleção, translocação e fragmentação.

# 4. Definição e Causas de Mutações Induzidas

## 4.3 e 4.4. Luz ultravioleta e radiação ionizante

### Radiação ionizante



Entre os sobreviventes de Hiroshima e Nagasaki a incidência de leucemias aumentou nos primeiros anos atribuídos à irradiação.

# REVISANDO CONCEITOS

---

**1. Quais os processos naturais que podem produzir mutações por danos no DNA?**

**2. Quais as principais classes de agentes mutagênicos? Como podem produzir mutações por danos no DNA?**

**3. Quais são os danos que ocorrem no DNA como resultados da exposição à luz ultravioleta e a radiação ionizante?**