

Oxidação de lipídeos e DNA

QBQ2509: Bioquímica Redox

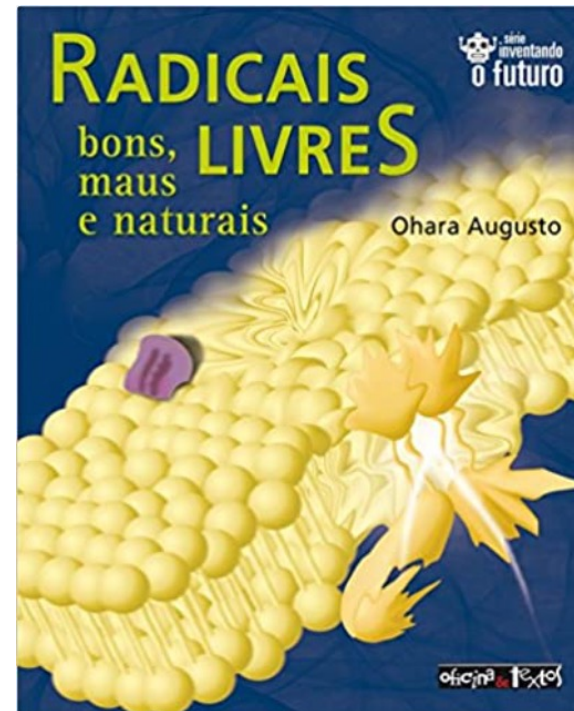
QBQ5893: Processos Redox em Bioquímica

Dr. Danilo B. Medinas

Material de estudo para prova

Halliwell: Capítulos 5

Manuscritos citados



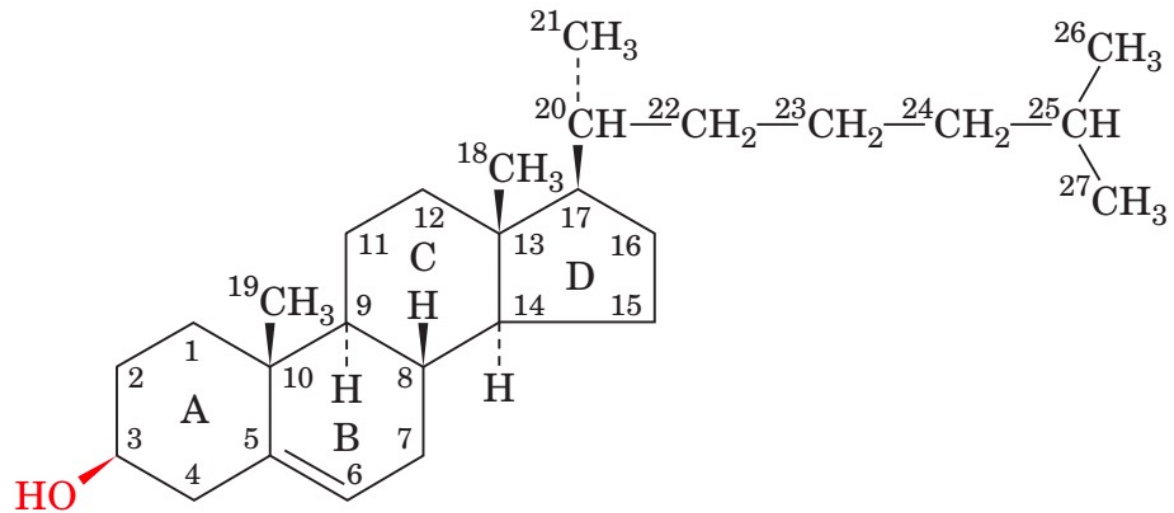
Tópicos e metas da aula

- **Recapitular estrutura de lipídeos e membranas.**
 - Pré-requisito para racionalizar alvos e consequências da lipoperoxidação.
- **Início e propagação da lipoperoxidação.**
 - Entender os mecanismos químicos de modificação de lipídeos e danos a membranas e suas consequências.
- **Recapitular estrutura de nucleotídeos e DNA.**
 - Reconhecer fatores determinantes para oxidação do DNA e suas consequências.
- **Tipos de oxidação no DNA e espécies envolvidas.**
 - Conhecer mecanismos de modificação da molécula de DNA e seu potencial envolvimento em mutações.
- **Sistemas de reparo do DNA.**
 - Racionalizar mecanismos celulares de defesa contra alterações no DNA e sua importância na homeostase celular.

Colesterol

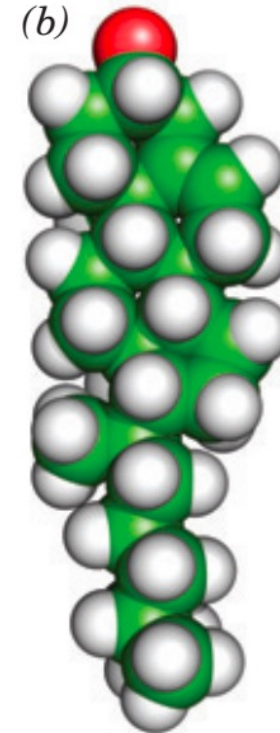
Colesterol também contribui para as propriedades biofísicas de membrana controlando sua fluidez

(a)

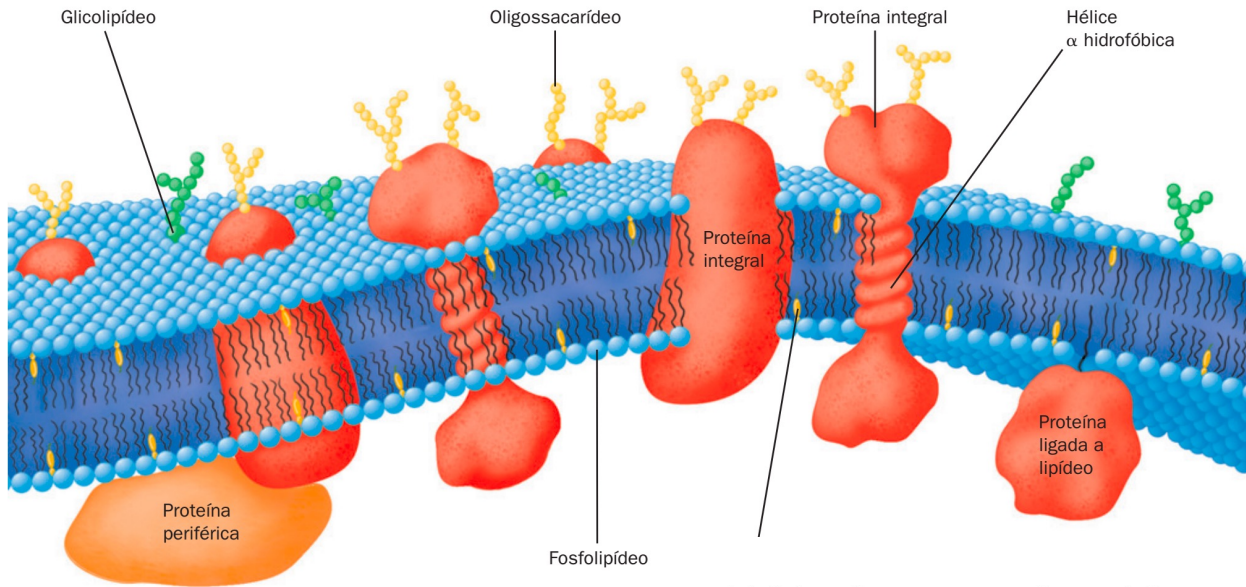


Colesterol

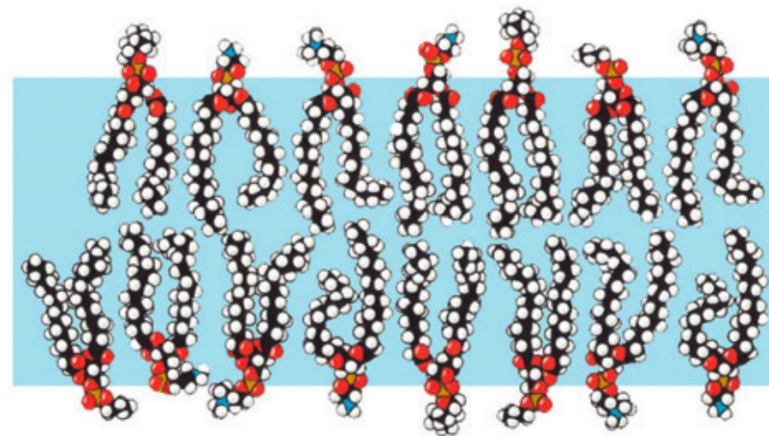
(b)



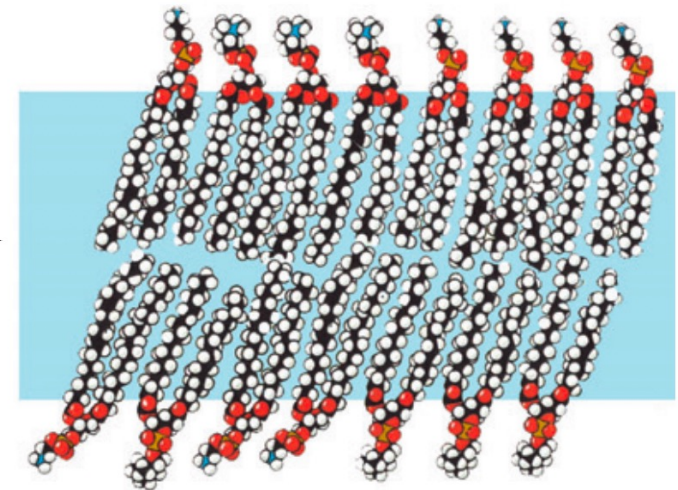
Membranas



(a) Acima da temperatura de transição



(b) Abaixo da temperatura de transição



Fluidez da membrana: fator a se considerar ao analisar a acessibilidade de lipídeos a oxidantes

Rancificação



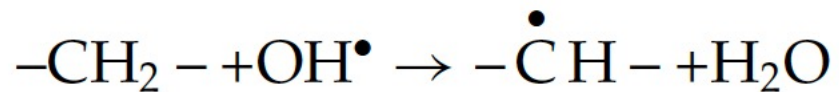
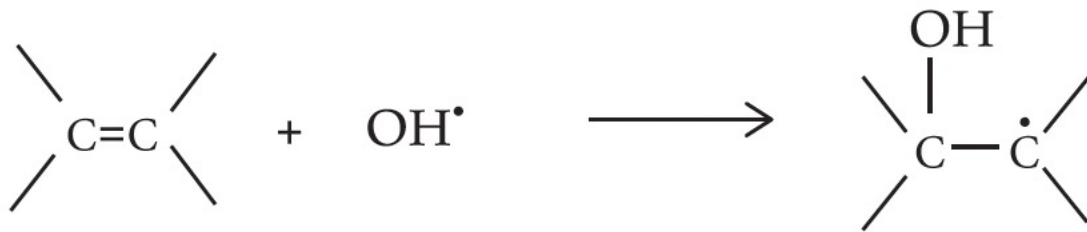
Processo de oxidação de gorduras que altera as propriedades nutritivas e sensoriais dos alimentos.



Mecanismos???

Início - Ataque a cadeia de carbono

Radical OH^\bullet pode se adicionar ou abstrair H^\bullet

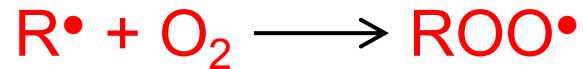


Outros radicais, HO_2^\bullet , RO_2^\bullet , RO^\bullet podem abstrair H^\bullet de PUFAs, de acordo com seu potencial de redução

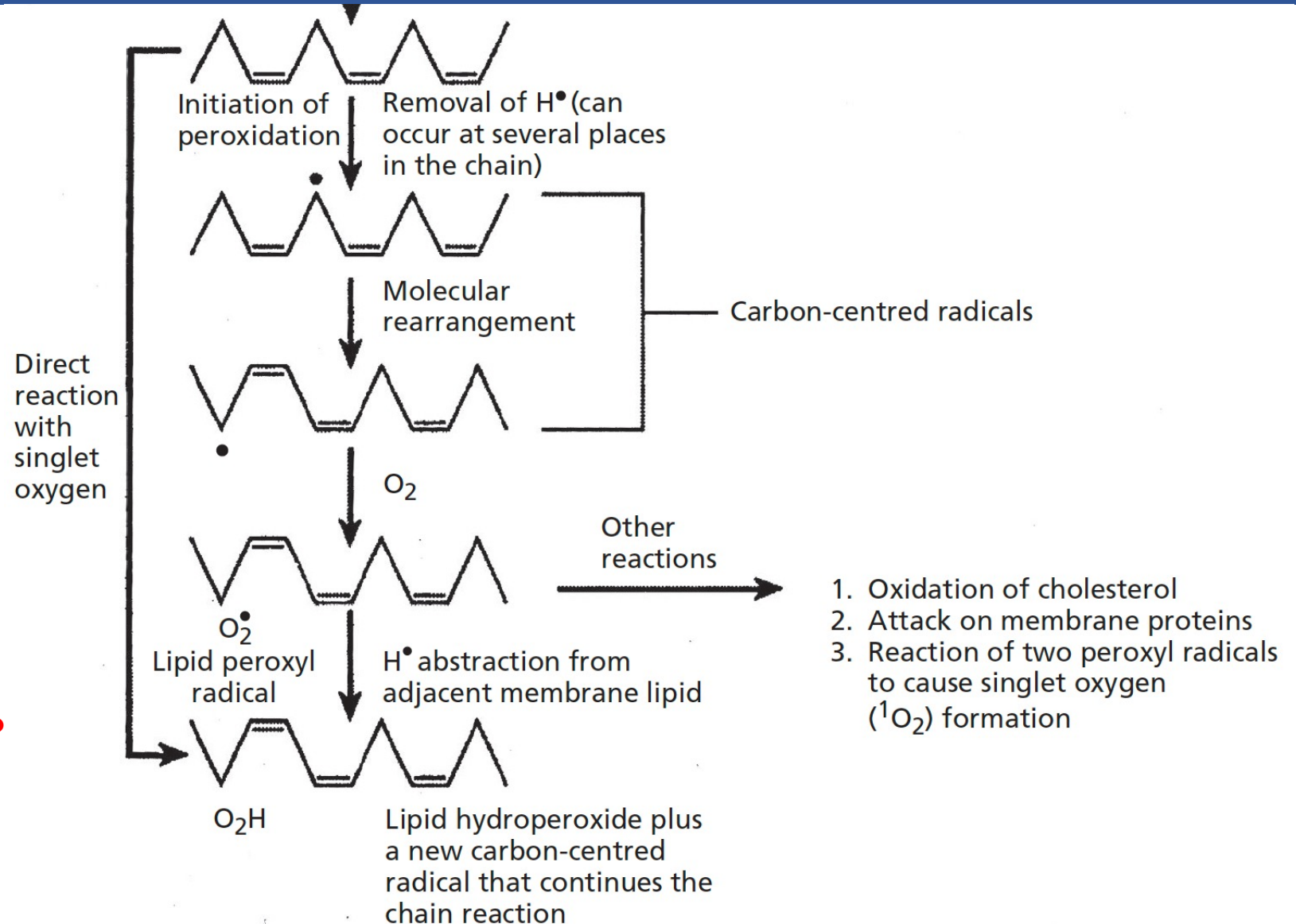
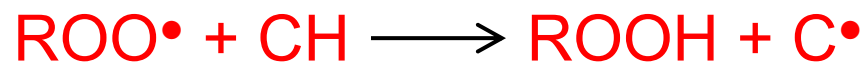
Table 2.2 Some biologically relevant standard reduction potentials.

	Couple	Standard reduction potential (V)
Highly reducing	$\text{H}_2\text{O} / \text{hydrated electron } (\text{e}_{\text{aq}}^-)$	-2.84
	$\text{CO}_2 / \text{CO}_2^{\bullet-}$	-1.80
↓	$\text{O}_2, \text{H}^+ / \text{HO}_2^\bullet$	-0.46
	Paraquat / paraquat $^{\bullet-}$	-0.45
	Fe(III)-transferrin / Fe $^{2+}$ -transferrin	-0.40 (pH 7.3)
	$\text{O}_2 / \text{O}_2^{\bullet-}$	-0.35
	$\text{NAD}^+, \text{H}^+ / \text{NADH}$	-0.32
	Fe(III)-ferritin / ferritin, Fe $^{2+}$	-0.19
	$\text{FAD}, 2\text{H}^+ / \text{FADH}_2$	-0.18
	Dehydroascorbate / ascorbate $^{\bullet-}$	-0.17
	Fe(III)-EDTA / Fe $^{2+}$ -EDTA	-0.12
	Ubiquinone, H $^+$ / ubiquinone	-0.04
	Fe(III)-ADP / Fe $^{2+}$ -ADP	~0.10
	Fe(III)-citrate / Fe $^{2+}$ -citrate	~0.10
	Ubisemiquinone, H $^+$ / ubiquinol	0.20
	Ferricytochrome c / ferrocyanochrome c	0.26
	ascorbate $^{\bullet-}$, H $^+$ / ascorbate $^-$	0.28
	$\text{H}_2\text{O}_2, \text{H}^+ / \text{H}_2\text{O}, \text{OH}^\bullet$	0.32
	$\alpha\text{T}^\bullet, \text{H}^+ / \alpha\text{TH}$ (α -tocopherol)	0.50
	$\text{HU}^{\bullet-}, \text{H}^+ / \text{UH}_2^-$ (urate)	0.59
	$\text{RO}_2^\bullet, \text{H}^+ / \text{ROOH}$ (peroxyl)	~0.77–1.44 ^a
	$\text{RS}^\bullet / \text{RS}^-$ (cysteine)	0.92
$\text{O}_2^{\bullet-}, 2\text{H}^+ / \text{H}_2\text{O}_2$	0.94	
$\text{HO}_2^{\bullet-}, \text{H}^+ / \text{H}_2\text{O}_2$	1.06	
$\text{RO}^\bullet, \text{H}^+ / \text{ROH}$ (aliphatic alkoxyl)	~1.60	
	(results variable)	
	$\text{CO}_3^{\bullet-}, \text{H}^+ / \text{HCO}_3^-$	1.78
Highly oxidizing	$\text{OH}^\bullet, \text{H}^+ / \text{H}_2\text{O}$	2.31

Propagação da Lipoperoxidação



[O₂] é mais elevada na membrana e determina a taxa de propagação da lipoperoxidação, ou seja, formação em cadeia de mais radicais de lipídeos através de ROO[•].



Propagação da Lipoperoxidação

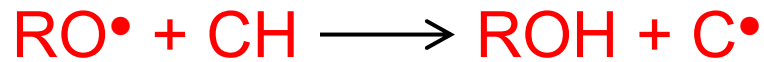
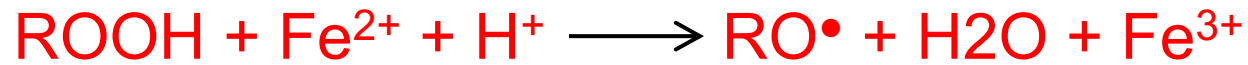
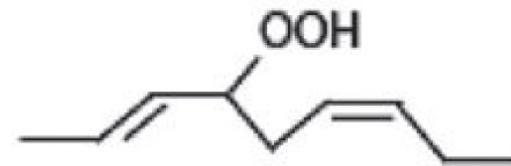
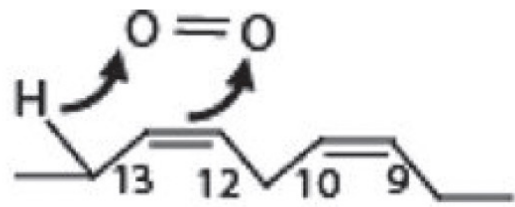


Table 5.10 Physiological forms of iron and their possible participation in RS formation.

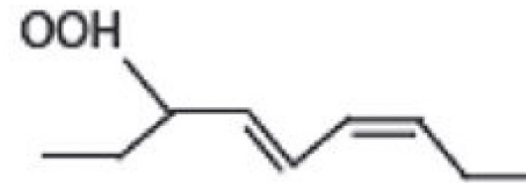
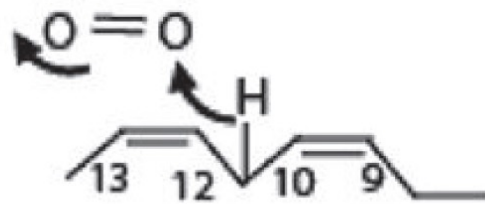
Type of iron	Will it decompose lipid peroxides to form alkoxy and/or peroxy radicals?	Can it form OH• from H ₂ O ₂ by Fenton chemistry?
<i>Iron ions bound to</i>		
Phosphate esters (e.g. ADP, ATP)	Yes	Yes
Carbohydrates and organic acids (e.g. citrate, picolinic acid, deoxyribose)	Yes	Yes
DNA	Yes	Yes
→ Membrane lipids	Yes	Yes
→ Loosely bound to proteins, e.g. albumin	Yes	Yes
<i>Iron bound to proteins</i>		
(i) Non-haem iron		
Ferritin	Probably no ^a	No ^a
Haemosiderin	No ^a	No ^a
Lactoferrin	No ^a	No ^a
Transferrin	No ^a	No ^a
Tartrate-resistant acid phosphatase ^d	Yes (if iron is released)	Yes (if iron is released)
(ii) Haem iron		
Haem itself	Yes	Probably no ^a
Haemoglobin	Yes	Yes (only if iron is released)
Leghaemoglobin	Yes	Yes (only if iron is released)
Myoglobin	Yes	Yes (only if iron is released)
→ Cytochrome c	Yes	Yes (only if iron is released)
Cytochromes P450	Yes, especially CYP2E1	Yes (only if iron is released)
Catalase	Weakly ^b	No ^c

Reações tipo Fenton com hidroperóxidos de lipídeos catalisadas por ferro biológico

Lipoperoxidação por O₂ Singlete

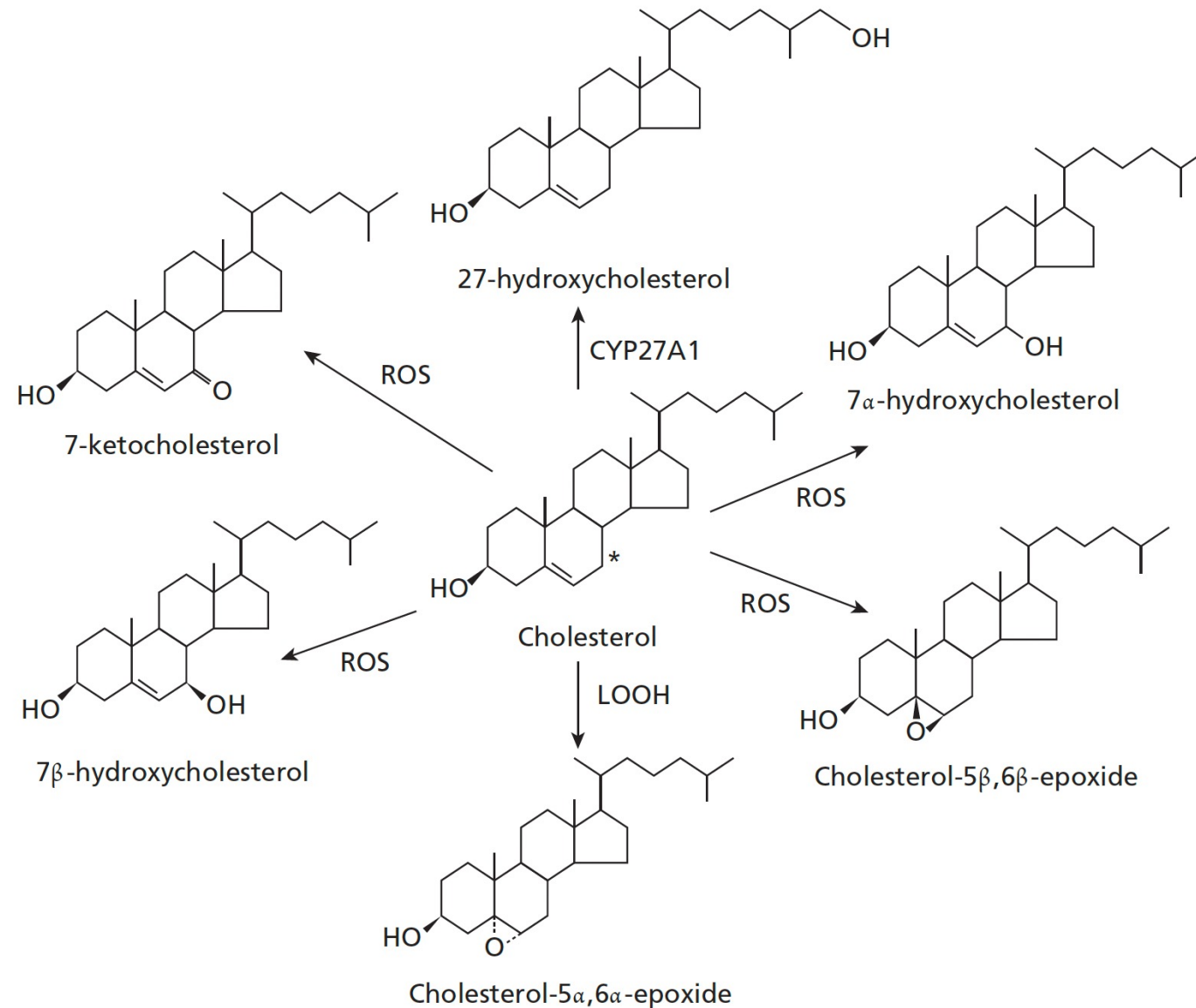


12-hydroperoxide



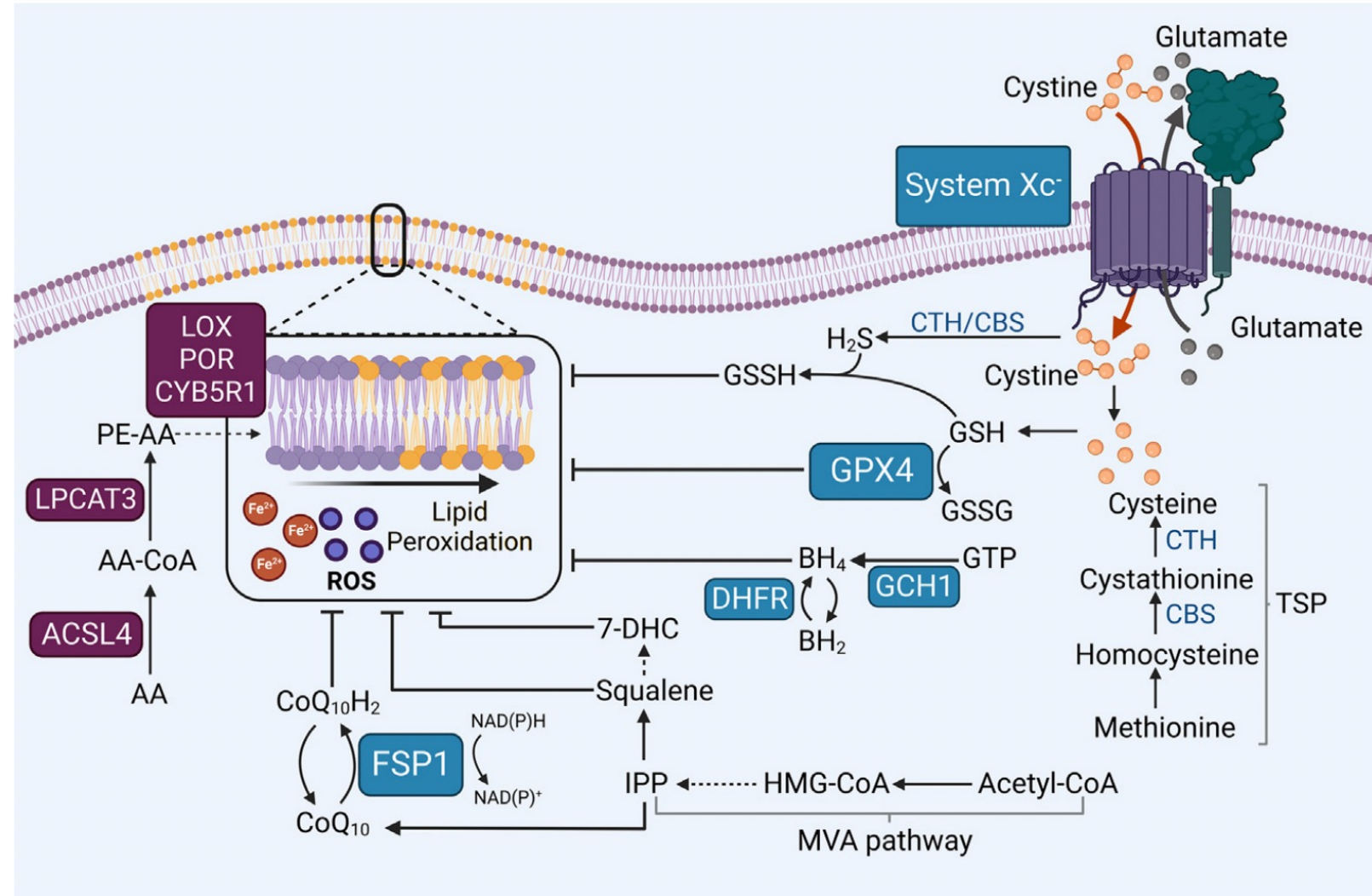
13-hydroperoxide

Colesterol também sofre Oxidação

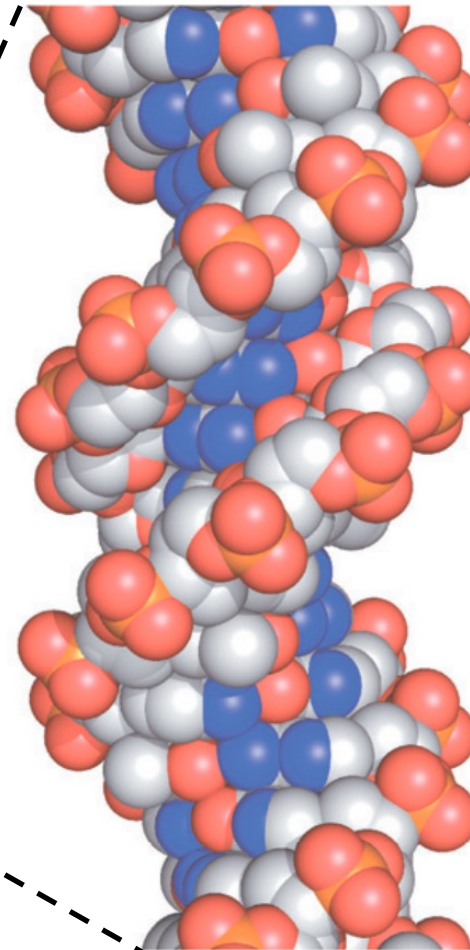
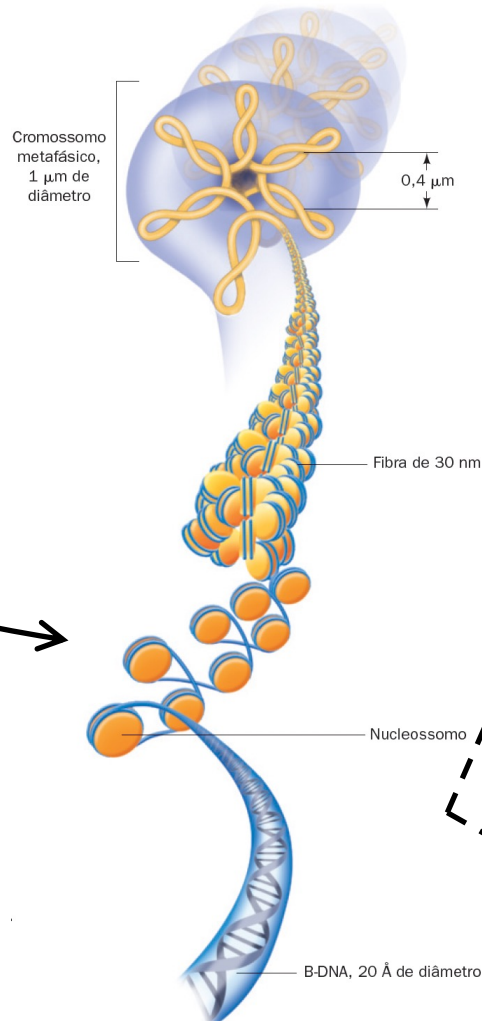
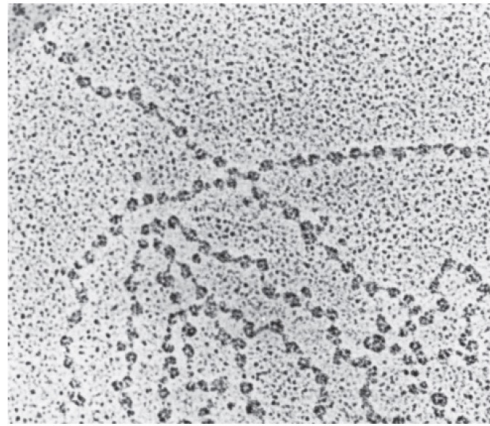


Consequências da Lipoperoxidação

- Fluidez da membrana alterada
- Permeabilidade da membrana comprometida
- Perda de função de proteínas de membrana
- Morte celular: ferroptosis
- Maior quantidade de PUFAs, mais suscetível a célula está para morrer por ferroptosis.



Estrutura do DNA

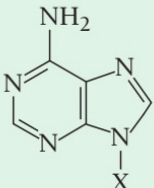
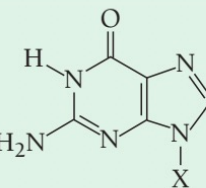
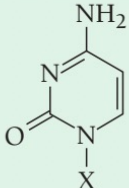
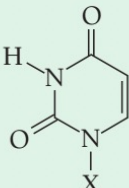
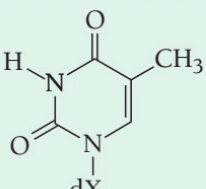


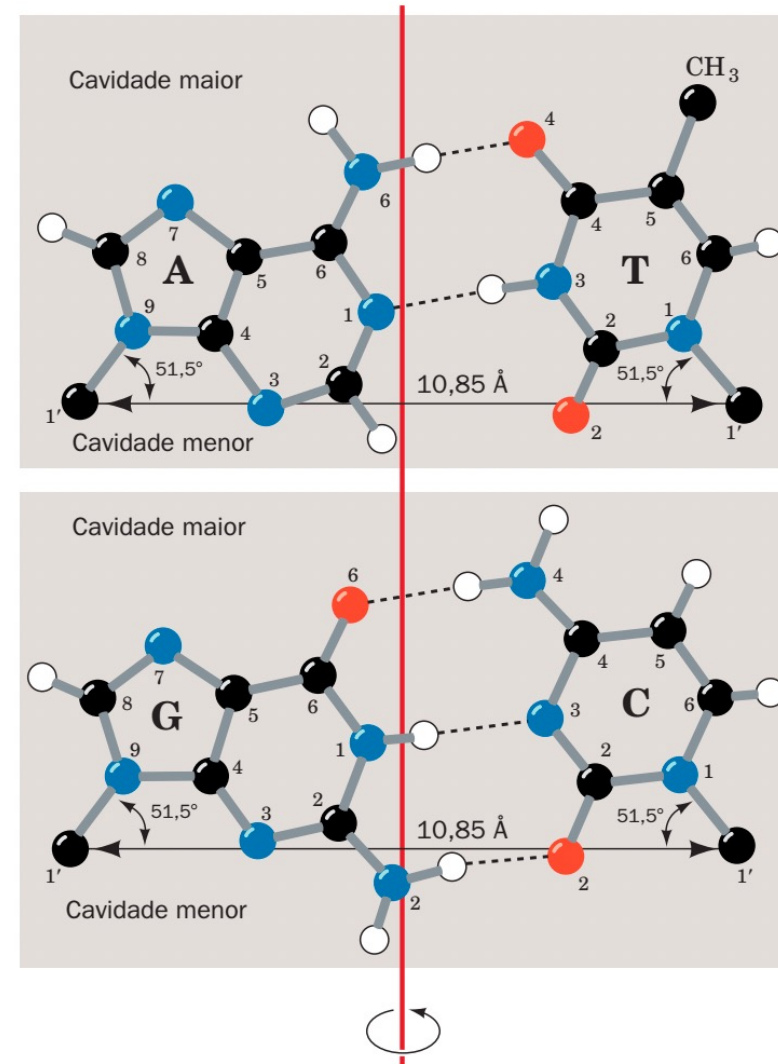
B-DNA

← Grupos fosfato podem coordenar íons metálicos como Fe^{2+} e Cu^{2+}

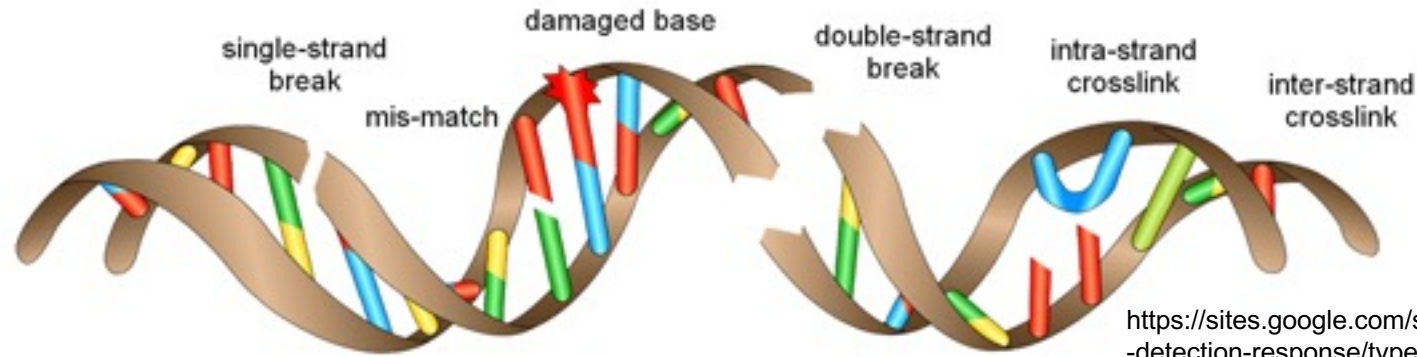
Reação de Fenton local

Bases Nitrogenadas do DNA

Fórmula da base	Base (X = H)	Nucleosídeo (X = ribose*)	Nucleotídeo** (X = fosfato da ribose*)
	Adenina Ade A	Adenosina Ado A	Ácido adenílico Adenosina-monofosfato AMP
	Guanina Gua G	Guanosina Guo G	Ácido guanosílico Guanosina-monofosfato GMP
	Citosina Cyt C	Citidina Cyd C	Ácido citidílico Citidina monofosfato CMP
	Uracila Ura U	Uridina Urd U	Ácido uridílico Uridina-monofosfato UMP
	Timina Thy T	Desoxitimidina dThd dT	Ácido desoxitimidílico Desoxitimidina-monofosfato dTMP

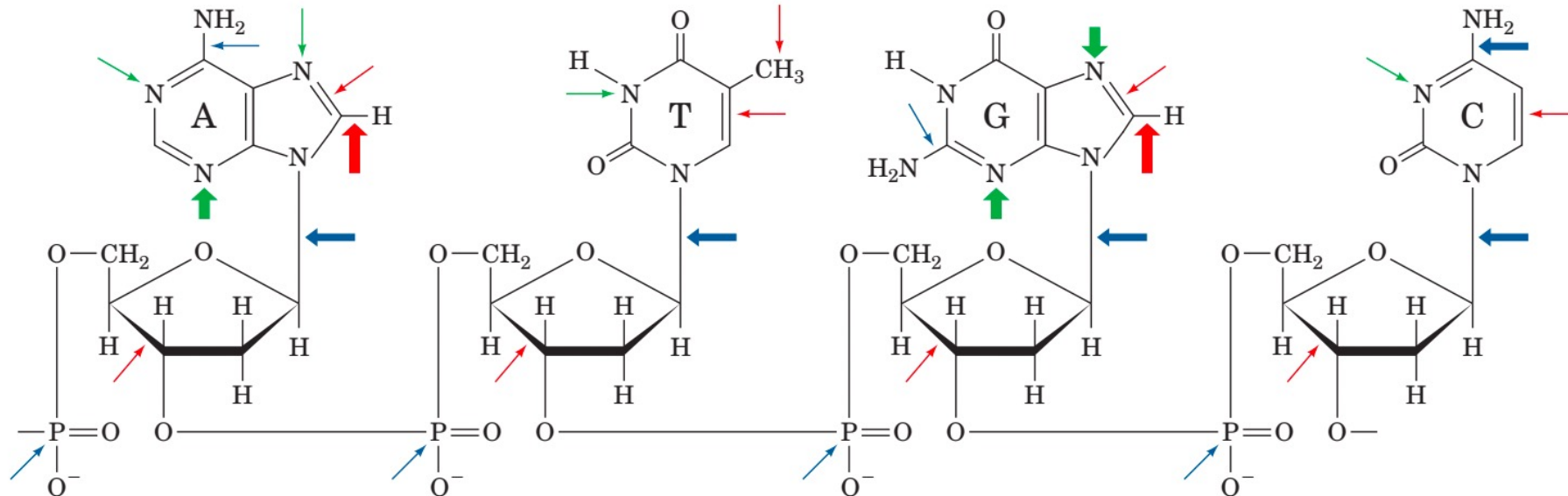


Sítios de Modificação no DNA

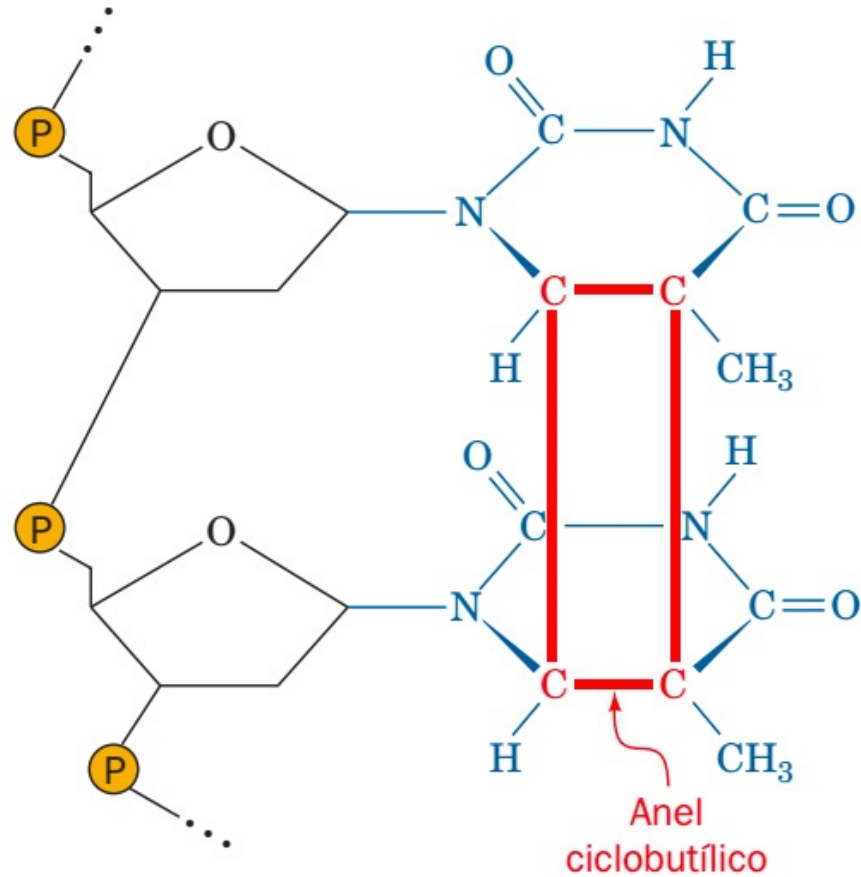


<https://sites.google.com/site/bi6101dnarepair/damage-detection-response/types-of-dna-damage>

Oxidação
Hidrólise
Metilação

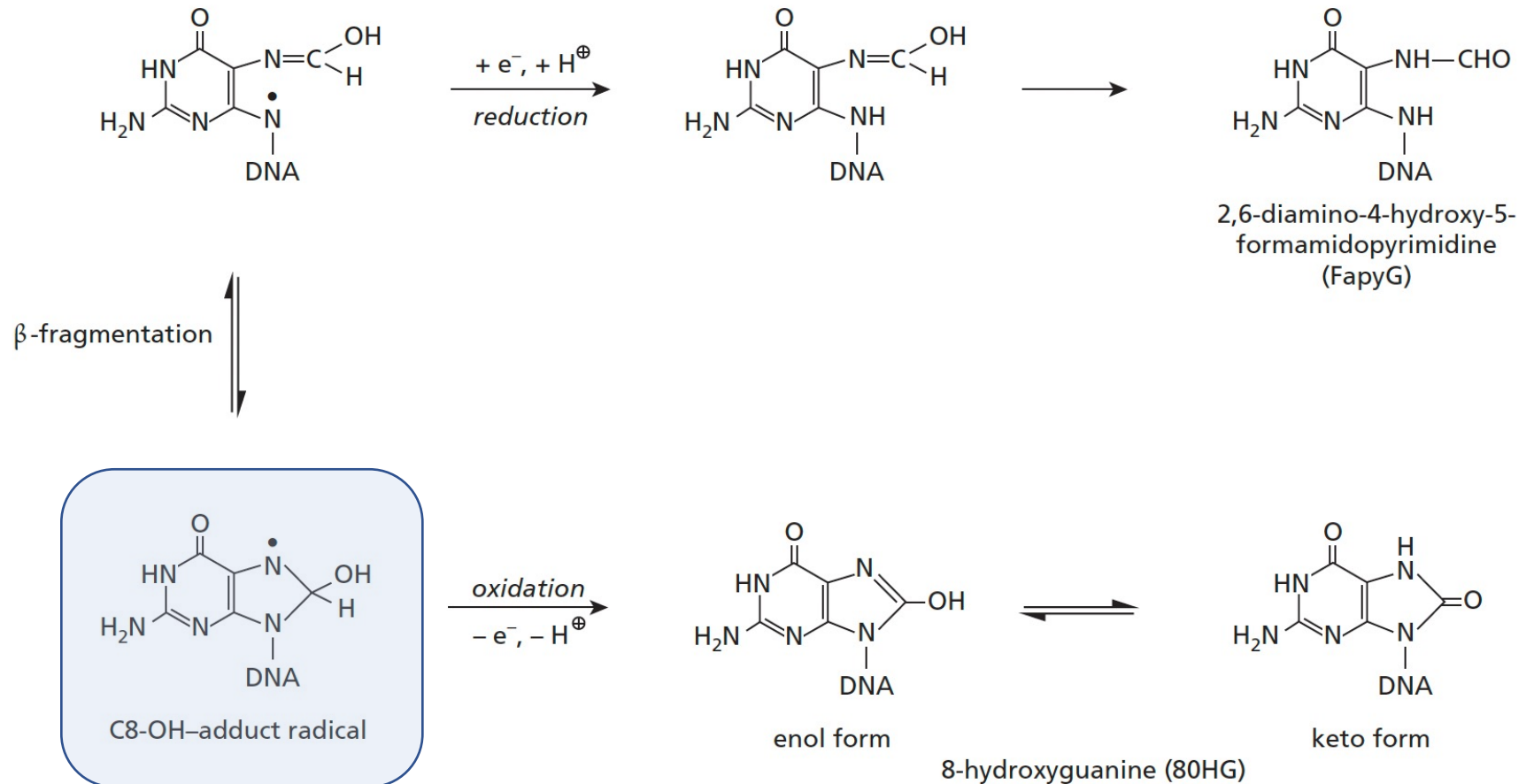
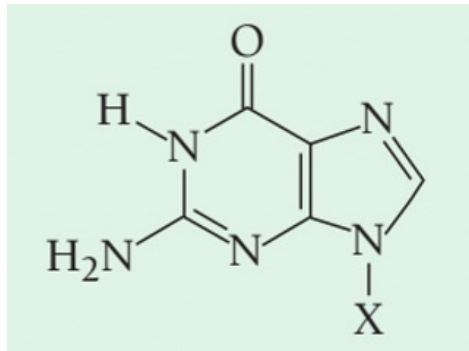


Radiação UV Gera Dímeros de Timina



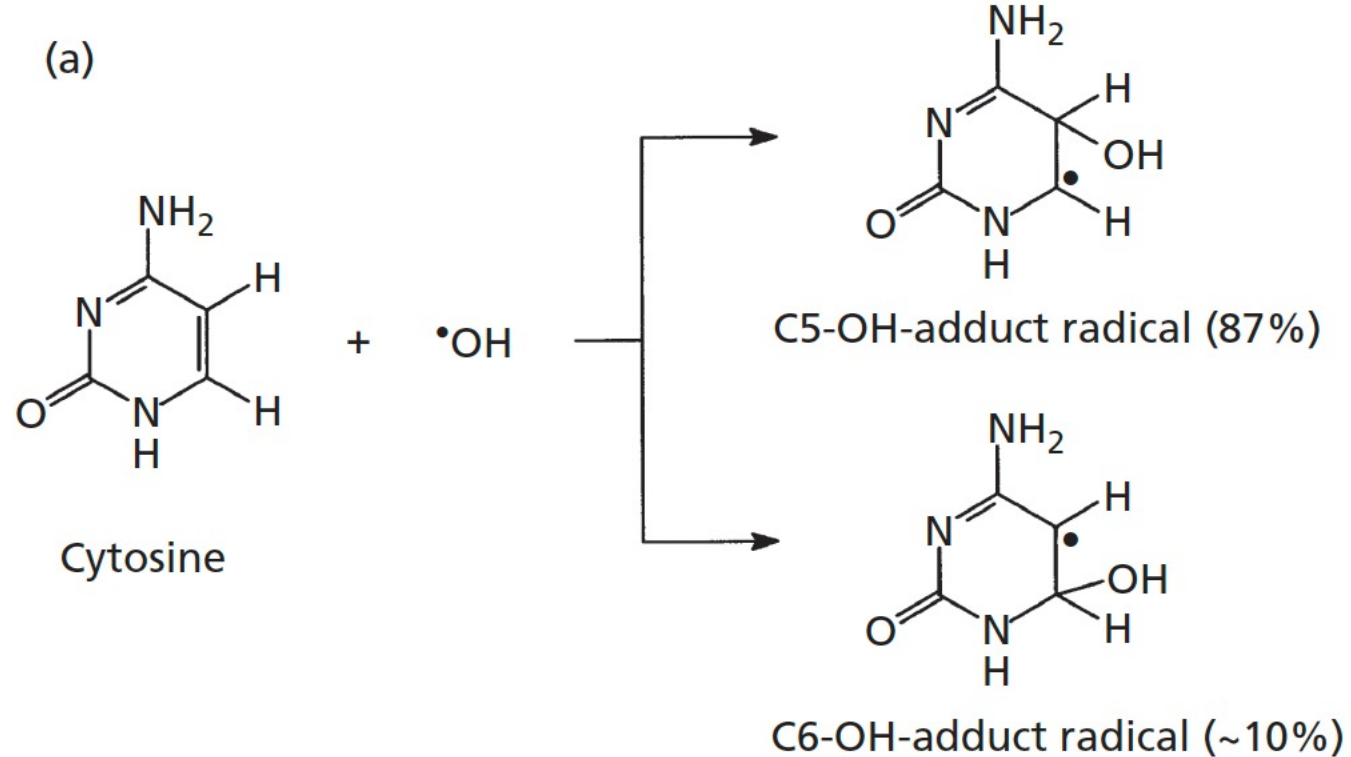
Ataque ao DNA pelo OH•

Oxidação da Guanina



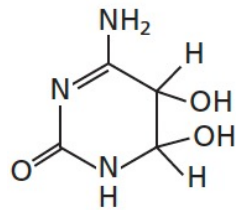
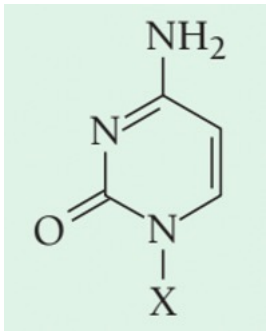
Ataque ao DNA pelo OH•

Oxidação da Citosina

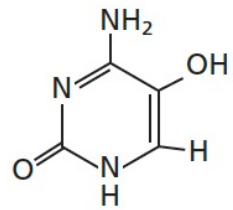


Ataque ao DNA pelo OH•

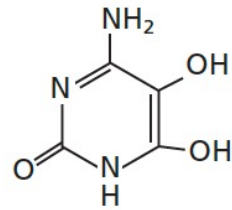
Oxidação da Citosina



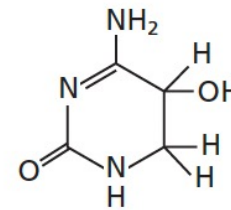
cytosine glycol



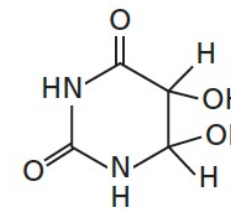
5-hydroxycytosine



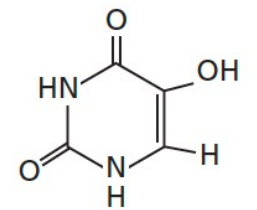
5,6-dihydroxycytosine



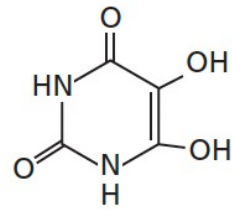
5-hydroxy-6-hydroxycytosine



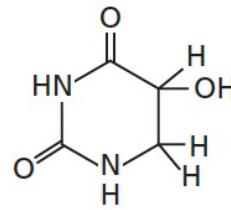
uracil glycol



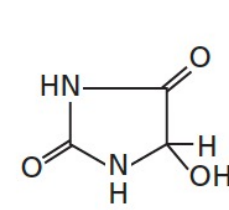
5-hydroxyuracil



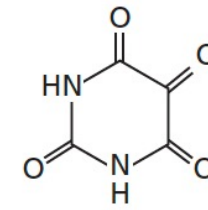
5,6-dihydroxyuracil



5-hydroxy-6-hydroxyuracil



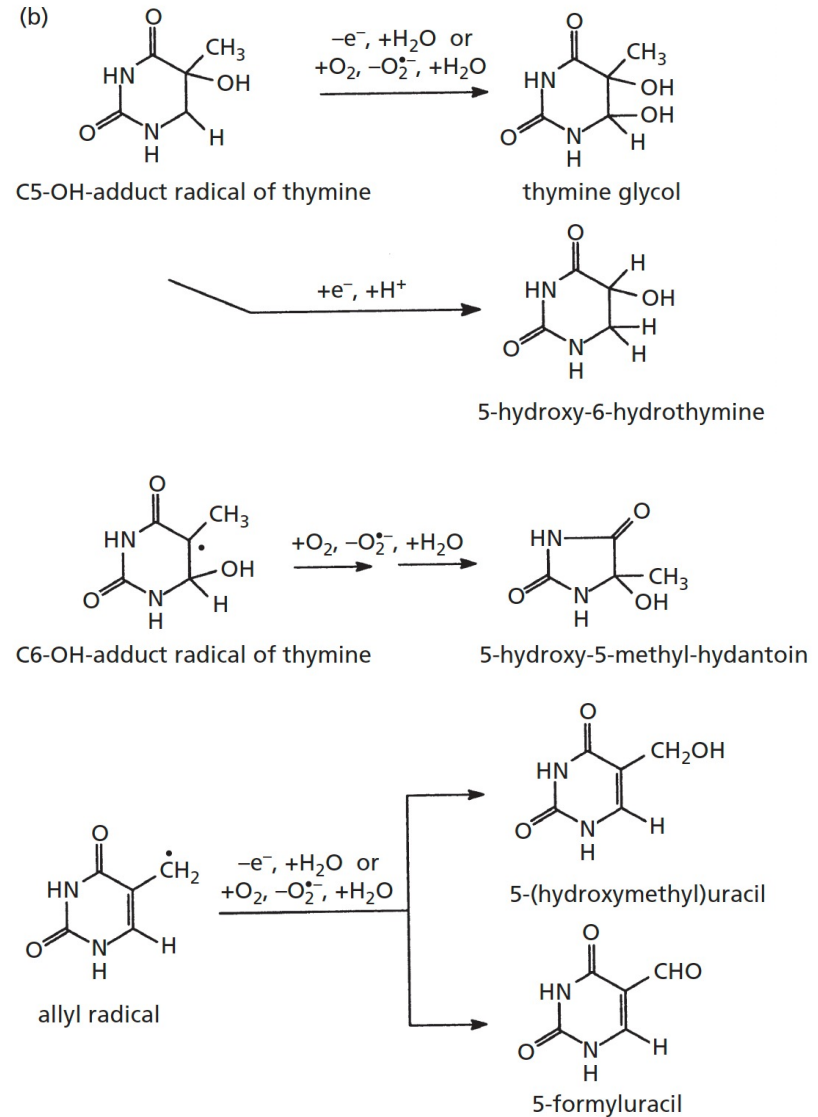
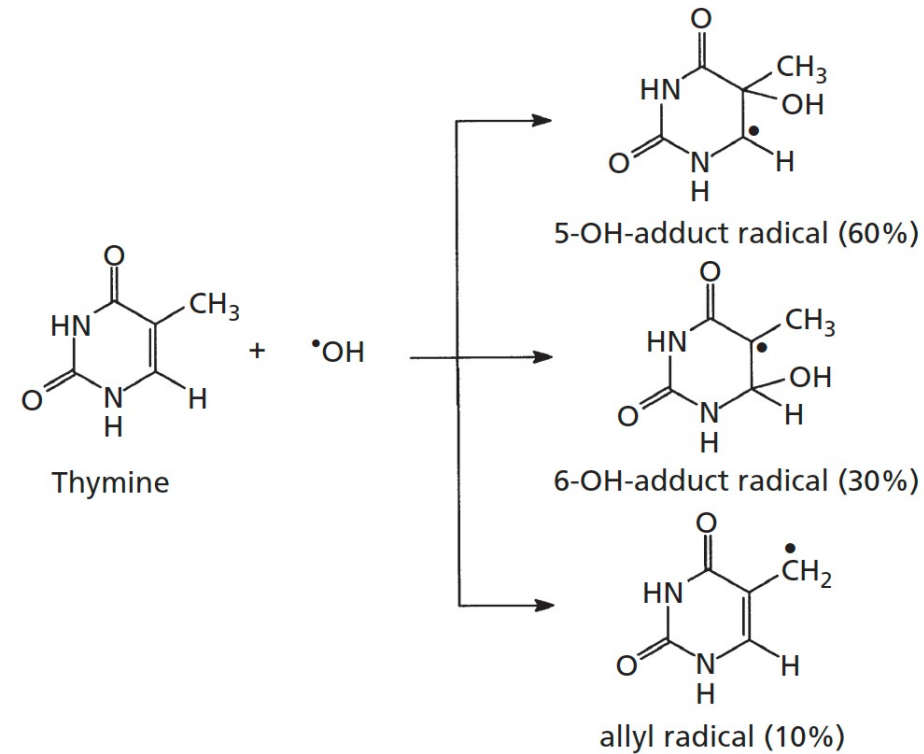
5-hydroxyhydantoin



alloxan

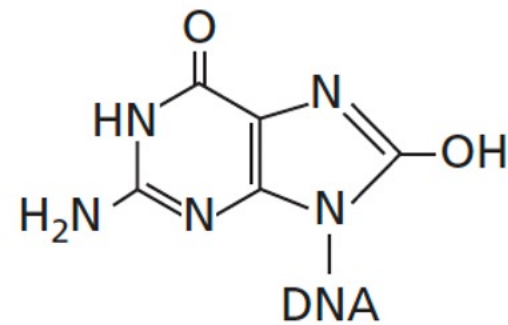
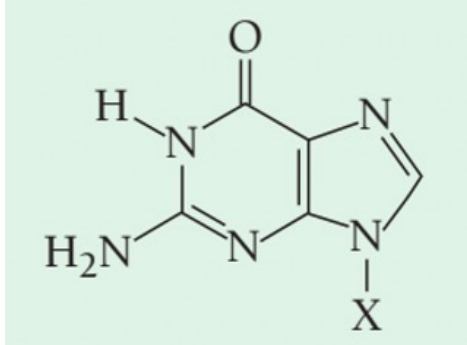
Ataque ao DNA pelo OH•

Oxidação da Timina

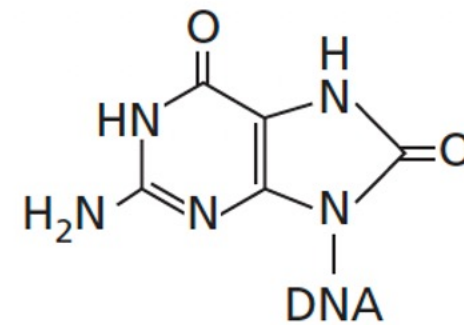


8-hidroxi Guanine é um produto do ataque de outros oxidantes também

- ✓ Ataque por radical carbonato e oxigênio singlete também levam a formação de 8OHG



enol form



keto form

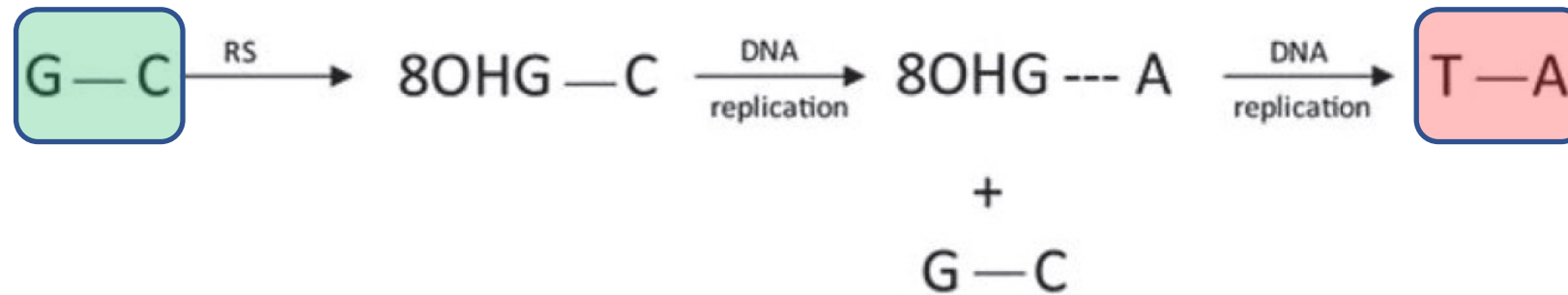
8-hydroxyguanine (8OHG)

HOCl e ONOO⁻ podem causar cloração e nitração de bases, respectivamente

Existe literatura indicando que o mtDNA sofre mais oxidação que o DNA nuclear, mas esse assunto é controverso

Consequências do dano oxidativo ao DNA?

Mal pareamento de bases \longrightarrow Mutações



Silenciamento de genes

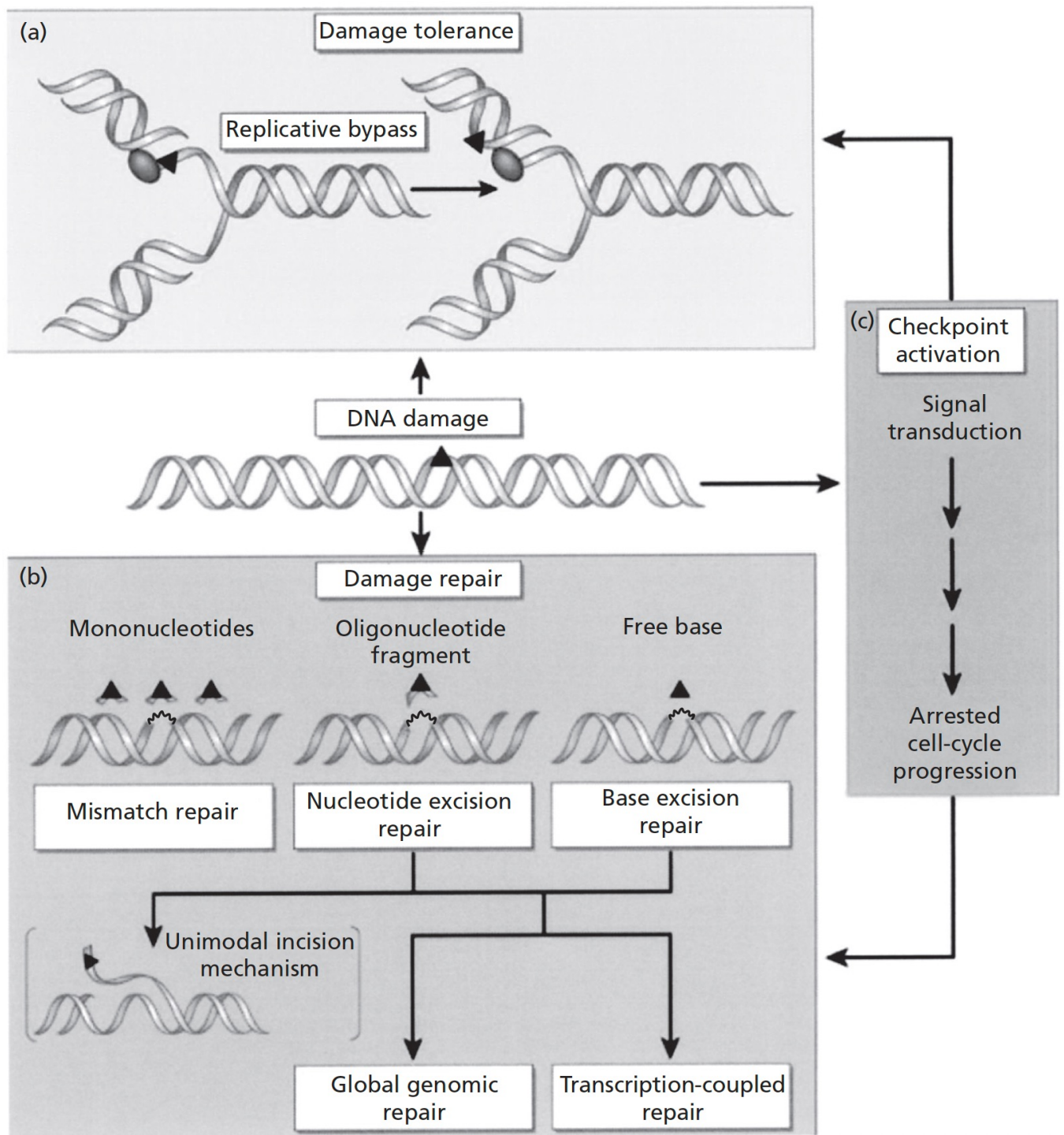
Doenças como câncer

Senescência e morte celular

Sistemas de Reparo

Reversão direta da lesão

- DNA-fotoliase
- Enzimas que hidrolisam bases modificadas e impedem sua incorporação ao DNA (Ex. NUDT1, hidrolisa 8OHdGTP e outros)
- Reparo por excisão de nucleotídeos: dímeros pirimidina
- Reparo por excisão de bases: bases oxidadas (Ex: 8OHG)
- Reparo por mal pareamento (erros no processo de replicação)



Sistemas de Reparo

Recombinação homologa

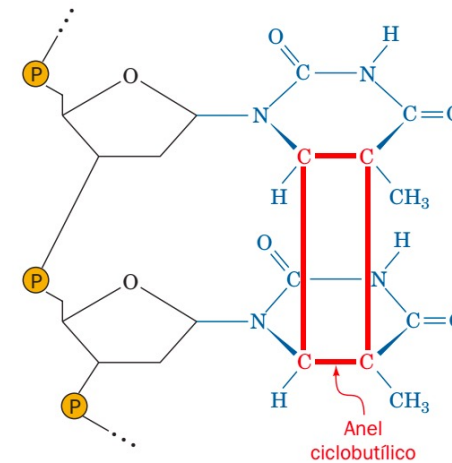
União de extremidades não homologas (quebra de fita dupla)

Doenças relacionadas a problemas nos sistemas de reparo do DNA

Xeroderma pigmentosum



Acumulação de dímeros de pirimidina



Defeitos em:

- Reparo por excisão de nucleotídeos

Recapitulando as metas da aula

- **Estrutura de lipídeos e membranas**
- **Mecanismos de início e propagação de lipoperoxidação**
- **Consequências da peroxidação de membranas**
- **Estrutura do DNA e nucleotídeos**
- **Lesões oxidativas no DNA**
- **Sistemas de reparo no DNA e doenças relacionadas**

Bibliografia

- **Halliwell and Gutteridge, Free Radicals in Biology and Medicine, 5th Edition, 2015.**
- **Donald Voet e Judith G. Voet, Bioquímica, 4^a edição, 2013.**
- **Manuscritos citados.**

Questões de Acompanhamento

1. Esquematize o início e propagação de lipoperoxidação. Como a cadeia radicalar pode ser terminada?
2. Como ocorre a morte por ferroptosis?
3. Explique a vulnerabilidade do DNA a metais de transição como ferro.
4. Que modificação no DNA pode ser mais mutagênica?
5. Quais sistemas de reparo de DNA mamíferos devem utilizar para dímeros de timina?