

Mutações, Agentes Mutagênicos e Sistemas de Reparo

2.1 Mutações 49

- 2.1.1 Conceito e tipos 49
 - 2.1.1.1 Mutações gênicas 49
 - 2.1.1.2 Mutações ou alterações cromossômicas 52

2.2 Agentes mutagênicos 58

- 2.2.1 Agentes físicos 58
 - 2.2.1.1 Radiações ionizantes 58
 - 2.2.1.2 Radiações ultravioleta 60
 - 2.2.1.3 Efeitos biológicos das radiações 61
- 2.2.2 Substâncias químicas 61

2.3 Sistemas de reparo 64

- 2.3.1 Reparo direto 64
- 2.3.2 Reparo por excisão 64
- 2.3.3 Reparo por recombinação homóloga 65
- 2.3.4 Reparo por junção de extremidades não homólogas 66
- 2.3.5 Reparo por subunidades catalíticas da DNA-polimerase 66



Caso clínico

S.F.G., sexo masculino, aos 47 anos começou a apresentar diminuição de concentração e de memória. Sua função intelectual foi gradativamente se deteriorando durante o ano seguinte, desenvolvendo ainda movimentos involuntários nos dedos e nos artelhos e distorções faciais. Até aparecerem os primeiros sintomas, S.F.G. era saudável e não sabia de nenhum ancestral com sintomas semelhantes. Seus pais faleceram antes dos 40 anos. Seus dois filhos, na faixa dos 20 anos, eram saudáveis. Após uma extensa avaliação clínica, a condição de S.F.G. foi diagnosticada como doença de Huntington. Esse diagnóstico foi confirmado por uma análise do DNA do paciente, que apresentou 43 repetições CAG em um dos seus alelos (nos indivíduos normais, o número dessas repetições apresenta-se inferior a 26). Foram realizados testes pré-sintomáticos nos dois filhos de S.F.G. Em um deles foi encontrado um alelo mutante da doença de Huntington.

Comentário

A doença de Huntington foi descoberta em 1872, devendo seu nome ao seu descobridor. É uma doença progressiva do sistema nervoso central, com movimentos descoordenados (coreia), excitação, alucinações e alterações psicológicas com perda do controle motor e intelectual. A doença pode ter início dos 25 aos 60 anos.

Os testes pré-sintomáticos e pré-natais são uma forma preditiva de teste e são mais bem interpretados após a confirmação de uma expansão CAG em um membro familiar afetado. Esses testes consistem na análise do número de repetições CAG dentro do éxon 1 do gene *HD*.

Mutações nesse gene causam a doença de Huntington, um distúrbio neurovegetativo grave de herança autossômica dominante. A prevalência da doença varia de 3-7/100.000 em europeus ocidentais a 0,1-0,38/100.000 entre os japoneses. Na América do Sul, a Venezuela apresenta alta frequência dessa doença, com homocigotos e heterocigotos com quadros clínicos semelhantes, sugerindo-se que tal frequência elevada seja decorrente do efeito do fundador (ver Cap. 8). Os dados brasileiros de frequência ainda não estão disponíveis.

O produto do gene *HD*, a huntingtina, é expresso em vários tecidos, mas principalmente no cérebro, onde é encontrada no citoplasma de todos os componentes neuronais, ao contrário da proteína mutante, que se localiza geralmente no núcleo celular. A huntingtina normal atua como fator de transcrição, estando envolvida em várias funções celulares, como a apoptose ou morte celular programada. A proteína mutante leva à formação de poliglutaminas (devidas às repetições do nucleotídeo

que codifica o aminoácido glutamina), que causam novas interações anômalas com outras proteínas.

As mutações causadoras dessa doença resultam, em geral, da expressão repetida da sequência de três bases nitrogenadas (CAG), que codifica o aminoácido glutamina e está localizada na região codificadora 5' desse gene. Os alelos normais do gene *HD* têm geralmente de 10 a 26 repetições de CAG, enquanto os alelos mutantes têm mais de 36 repetições. Aproximadamente 3% dos pacientes desenvolvem a doença de Huntington em consequência de uma nova expansão da repetição CAG, enquanto 97% herdam um alelo mutante do gene *HD* de um genitor não afetado. Novos mutantes do alelo *HD* surgem da expansão de uma pré-mutação (de 27 a 35 repetições CAG) para uma mutação total de 36 ou mais repetições, como no caso clínico aqui relatado.

A instabilidade no número de repetições CAG dentro dos alelos mutantes do gene *HD* resulta, em geral, na *antecipação*, ou seja, a idade de início da patologia é progressivamente mais precoce em gerações sucessivas, sendo inversamente proporcional ao número de repetições trinucleotídicas. Nos pacientes cuja doença começa no início da vida adulta, ocorrem de 40 a 55 repetições; nos pacientes com doença de início juvenil, surgem, em geral, mais de 60 repetições. As causas dessa expansão trinucleotídica de geração a geração podem ser erros durante a replicação ou durante o reparo do DNA danificado.

Se o número de repetições for de 36 ou mais nos alelos mutantes, esse aumento de trinucleotídeos se dá em geral durante a transmissão paterna. Durante a transmissão materna, essas repetições são menos frequentes e em menor número. Como o número de repetições CAG é inversamente correlacionado com a idade de início, os indivíduos que herdam uma mutação do genitor masculino apresentam um risco aumentado de desenvolver a doença de início mais precoce. Aproximadamente 80% dos pacientes juvenis herdam o gene mutante do pai, não da mãe.

O gene *HD*, atualmente também denominado *IT15* (de *interesting transcript 15*), tem 180 kb e 67 éxons, estando localizado no cromossomo 4p16.3, isto é, banda 3 da região 16 do braço curto do cromossomo 4.

O indivíduo afetado tem a probabilidade de 50% de transmitir o alelo *HD* mutante aos seus descendentes, embora isso não se aplique aos alelos com penetrância reduzida (36 a 41 repetições CAG), nem aos portadores de uma pré-mutação (27 a 35 repetições CAG). Todos os filhos que herdam o alelo mutante (*HD*) chegarão a desenvolver a doença, se sua vida tiver duração próxima à média da população.

2.1 Mutações

2.1.1 Conceito e tipos

Em geral, a replicação do DNA se dá de maneira correta; eventualmente, podem ocorrer erros nesse processo, que constituem fonte de variabilidade, a qual é um componente essencial no processo da evolução. As alterações hereditárias do material genético de um organismo, decorrentes de erros de replicação antes da divisão celular e não causadas por recombinação ou segregação, são denominadas **mutações**. O termo **mutante** refere-se a um fenótipo incomum ou à expressão do gene que sofreu a mutação. O fenótipo comum ou a expressão fenotípica do gene inalterado é denominado **tipo selvagem**. Mas nem todas as mutações são detectáveis fenotipicamente, podendo, no entanto, ser verificadas no nível molecular. Na espécie humana, uma mutação provavelmente será reconhecida mais pelos seus efeitos prejudiciais, causando um transtorno ou uma doença, do que por seus efeitos benéficos, como o aumento da resistência a infecções ou o aumento da sobrevivência.

As modificações hereditárias que ocorrem num locus gênico específico são chamadas **mutações gênicas, de ponto** ou **pontuais**, que podem envolver substituição, adição ou perda de uma única base. Se as modificações forem maiores, alterando os cromossomos, elas são denominadas **mutações cromossômicas**, sendo mutações **estruturais** as que modificam a estrutura dos cromossomos e mutações **numéricas** as que alteram o seu número. Em geral, esses tipos de mutações são denominados **alterações** ou **anomalias cromossômicas**.

2.1.1.1 Mutações gênicas

De acordo com a sua etiologia, as mutações são classificadas em **espontâneas**, quando ocorrem sem que haja a

interferência conhecida de qualquer agente capaz de provocá-las, e **induzidas**, quando ocorrem em frequência aumentada pela ação de agentes físicos e/ou químicos conhecidos, denominados **agentes mutagênicos**. A maioria desses agentes atua diretamente sobre o DNA, seja alterando uma determinada base, seja incorporando-se ao mesmo. A frequência de mutações denomina-se **taxa de mutação** e é expressa pelo número de mutações por locus, por gameta e por geração. Na espécie humana, a taxa média de mutações está em torno de 1/100.000/locus/geração. Essa taxa pode ser aumentada pela ação de agentes mutagênicos. A **Tabela 2.1** mostra as taxas de mutação de genes responsáveis por algumas doenças humanas.

As mutações gênicas podem ser de três tipos: por **substituição** de base, por **perda** ou **deleção** de base, e por **adição** ou **inserção** de base (**Fig. 2.1**).

As mutações por **substituição** apresentam denominações diferentes, de acordo com o tipo de bases que envolvem. Quando a substituição abrange bases do **mesmo tipo**, isto é, substituição de uma purina por outra purina ou de uma pirimidina por outra de igual tipo, ela é denominada **transição**. Exemplos: purina → purina – ACG (treonina) → GCG (alanina); pirimidina → pirimidina – ACA (treonina) → AUA (isoleucina).

Quando a substituição envolve bases de **tipos diferentes**, isto é, troca de uma purina por uma pirimidina, ou vice-versa, a mutação chama-se **transversão**. Exemplos: purina → pirimidina – AAG (lisina) → ACG (treonina); pirimidina → purina – UGC (cisteína) → UGG (triptofano).

Quando a substituição de base ocasiona a troca de um aminoácido, é denominada **mutação com sentido trocado** ou **incorreto** (*missense*, em inglês) e seu efeito sobre a proteína depende da natureza da substituição do aminoácido. A substituição do aminoácido na cadeia polipeptídica pode levar a uma proteína altera-

Tabela 2.1 Taxas de mutação dos genes que causam algumas doenças humanas

Doenças	Mutações por milhões de gametas	Sinais e sintomas
Ligadas ao sexo		
Distrofia muscular Duchenne	40 a 105	Atrofia muscular
Hemofilia A	30 a 60	Deficiência grave da coagulação sanguínea
Hemofilia B	0,5 a 10	Deficiência leve da coagulação sanguínea
Autossômicas dominantes		
Acondroplasia	10	Nanismo
Aniridia	2,6	Ausência de íris
Doença de Huntington	<1	Movimentos incontroláveis; alterações psíquicas
Síndrome de Marfan	4 a 6	Anomalias esqueléticas e cardiovasculares, membros longos
Neurofibromatose 1	40 a 100	Manchas castanhas na pele, tumores benignos subcutâneos
Osteogênese imperfeita	10	Ossos quebradiços
Doença do rim policístico	60 a 120	Crescimento benigno dos rins
Retinoblastoma	5 a 12	Tumor maligno da retina

Fonte: Lewis.¹

Substituição de par de bases												
Mutação de sentido trocado						Mutação sem sentido						
DNA	Normal	AAA	Mutante	AGA	DNA	Normal	AGC	Mutante	ATC			
RNA	UUU	UCU	Proteína	Ser	RNA	UCG	UAG	Proteína	Ser	Fim		
Adição ou deleção de par de bases												
Mudança na fase de leitura												
Normal						Adição						
DNA	TAC	CCC	TTT	CAA	AGC	DNA	TAC	AAA	CTT	TCA	AAGC	
RNA	AUG	UUU	AAA	GUU	UCG	RNA	AUG	UUU	GAA	AGU	UUCG	
Proteína	Met	Fen	Lis	Val	Ser	Proteína	Met	Fen	Glu	Ser	Fen	

A

Normal															
DNA	ATG	CAG	GTG	ACC	TCA	GTG									
RNA	AUG	CAG	GUG	ACC	UCA	GUG									
Proteína	Met	Gln	Val	Tre	Ser	Val									
Mutação de sentido trocado						Mutação sem sentido									
DNA	ATG	CAG	CTG	ACC	TCA	GTG	ATG	CAG	GTG	ACC	TGA	GTG			
RNA	AUG	CAG	CUG	ACC	UCA	GUG	AUG	CAG	GUG	ACC	UGA	GUG			
PROTEÍNA	Met	Gln	Leu	Tre	Ser	Val	Met	Gln	Val	Tre	fim				
Mudança na fase de leitura						Mutação de inserção									
DNA	ATG	CAG	GTG	AAC	CTC	AGTG	ATG	CAG	GTG	- LINE-3.000 pb	-ACC	TCA	GTG		
RNA	AUG	CAG	GUG	AAC	CUC	AGUG	AUG	CAG	GUG	- LINE-3.000 pb	-ACC	UCA	GUG		
PROTEÍNA	Met	Gln	Val	Asn	Leu	Ser	Met	Gln	Val	-----?					
Mutação de deleção						Expansão de trinucleotídeo									
DNA	ATG	TCA	GTG				ATG	-(CAG	CAG	CAG) ₂₀	CAG	GTG	ACC	TCA	GTG
RNA	AUG	UCA	GUG				TAC	-(GTC	GTC	GTC) ₂₀	GTC	CAC	TGG	AGT	CAC
PROTEÍNA	Met	Ser	Val				AUG	-(CAG	CAG	CAG) ₂₀	CAG	GUG	ACC	UCA	GUG
						Met - (Gln - Gln - Gln) ₂₀ - Gln - Val - Tre - Ser - Val									
						DNA ATG - (CAG CAG CAG) ₇₅ CAG GTG ACC TCA GTG TAC - (GTC GTC GTC) ₇₅ GTC CAC TGG AGT CAC RNA AUG - (CAG CAG CAG) ₇₅ CAG GUG ACC GCA GUG PROTEÍNA Met - (Gln - Gln - Gln) ₇₅ - Gln - Val - Tre - Ser - Val									

B

Figura 2.1

A – Tipos de mutações que ocorrem no DNA: substituição, inserção e deleção de bases. **B** – Como essas mutações alteram o produto proteico: as mutações no DNA resultam de uma substituição de um par de bases (mutações de sentido trocado ou sem sentido), de inserção ou deleção de um ou dois pares de bases (mutações de mudança na fase de leitura), de inserção ou deleção de um grande número de pares de bases (mutações de inserção ou deleção) e de mutações de expansão de repetições trinucleotídicas.

Fonte: Modificada de Hoffee.⁴

da, com redução ou perda da sua atividade biológica, ou pode acarretar também uma proteína semelhante à normal, sem qualquer efeito funcional. Se a substituição fizer surgir um dos três códons terminais (UAA, UAG e UGA), finalizando prematuramente a síntese proteica, ela se chama **mutação sem sentido** (*nonsense*, em

inglês). Na maioria dos casos, a cadeia polipeptídica é encurtada e provavelmente não conserva sua atividade biológica normal.

Conforme seu efeito, as substituições também se classificam em:

- Diretas** – Substituições de base que resultam na troca do aminoácido original para um novo aminoácido. Exemplo: UUU (fenilalanina) → UUA (leucina).
- Reversas** – Responsáveis pelo processo inverso, quando ocorrem no mesmo ponto. Exemplo: UUA (leucina) → UUU (fenilalanina).
- Silenciosas** – Quando a mudança implica um códon sinônimo, que não altera o aminoácido. Exemplo: UUU (fenilalanina) → UUC (fenilalanina).
- Neutras** – Quando a substituição de base resulta em troca de aminoácido, mas isso não afeta a atividade da proteína.

A **Figura 2.2** mostra que os efeitos das mutações podem variar, das silenciosas às nulas. As **substituições** de base alteram apenas o códon ao qual ela pertence, acarretando somente a alteração de um aminoácido na proteína. Embora a atividade desta última possa ser reduzida, ela não é abolida.

Quando se trata de deleção ou inserção de três bases adjacentes, ou de múltiplos de três bases, há perda ou adição de aminoácidos na cadeia polipeptídica, mas a fase de leitura das bases da sequência restante não se altera, embora o polipeptídeo possa não ser funcional. No entanto,

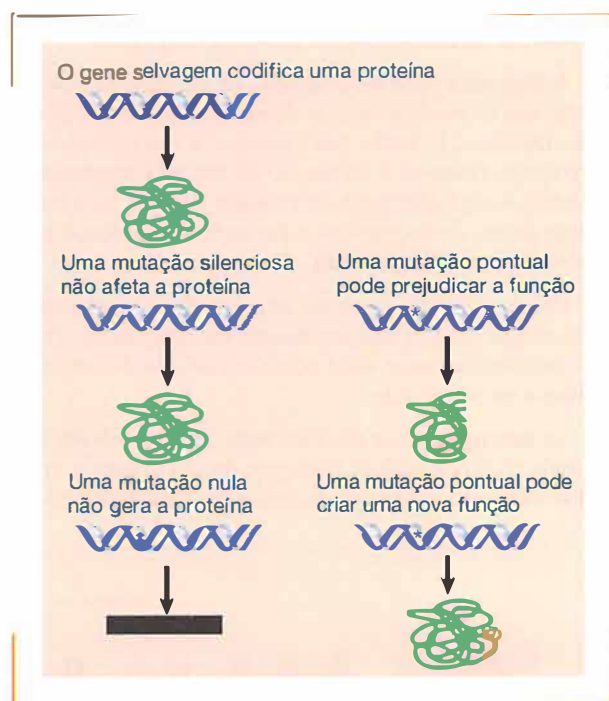


Figura 2.2

Mutações que não afetam a sequência da proteína ou sua função são silenciosas; mutações que eliminam a atividade da proteína são nulas. Mutações pontuais que causam perda de função podem ser dominantes ou recessivas; as que causam ganho de função são geralmente dominantes.

Fonte: Modificada de Lewin.⁹

quando essas mutações não envolvem três bases ou múltiplos de três bases, a leitura se altera até o fim da cadeia, e geralmente o polipeptídeo resultante é não funcional.

Podem ocorrer, ainda, mutações no DNA não codificador, que podem ser inócuas fenotipicamente, a menos que ocorram em sequências do DNA relacionadas com a regulação dos genes estruturais ou na junção da emenda entre íntrons e éxons. As mutações nas sequências reguladoras podem afetar o nível da expressão gênica, enquanto as mutações na junção da emenda podem causar perda de sequências codificadoras (perda de éxons) ou retenção de sequências não traduzidas (manutenção de íntrons) na molécula de RNA mensageiro, ocasionando erro no encadeamento (*splicing*). As mutações das junções da emenda parecem ocorrer mais comumente em genes do colágeno, sendo a base mutacional para a osteogênese imperfeita.

As mutações ainda podem ser classificadas em **mutações estáveis** ou **fixas**, quando são transmitidas inalteradas às gerações seguintes, e **mutações instáveis** ou **dinâmicas**, quando sofrem alterações ao serem transmitidas nas famílias. As estáveis ou fixas abrangem as substituições, deleções e inserções de bases; as instáveis ou dinâmicas consistem em sequências de trincas repetidas que ocorrem em número de cópias aumentadas (**amplificação** ou **expansão de trinucleotídeos**), constituindo as mutações básicas para muitas doenças de herança monogênica, inclusive a doença de Huntington, deficiência mental determinada pelo X frágil e distrofia miotônica. Ainda não é bem conhecido como ocorre a amplificação ou a expansão do número de repetições de trincas. Sabe-se, no entanto, que as repetições de trincas abaixo de um determinado número para cada doença são fielmente transmitidas, na mitose e na meiose; acima de certo número de repetições para cada doença, são instáveis e geralmente serão transmitidas com aumento ou decréscimo no número de trincas repetidas. Um dos possíveis mecanismos causadores é o *crossing-over* desigual entre cromátides-irmãs, gerando e expandindo essas repetições de trincas.

As expansões das trincas repetidas normalmente ocorrem em várias gerações de uma família, fornecendo uma explicação para um padrão de herança incomum, bem como a possível base para o fenômeno da antecipação (ver Cap. 5).

Em algumas doenças, a expansão de trincas ocorre dentro da sequência codificadora, enquanto em outras ocorrem nas extremidades 5' ou 3' do gene.

Segundo seus efeitos fenotípicos, as mutações podem ser classificadas em dois tipos: **mutações de perda de função**, que reduzem ou eliminam a função de seu produto gênico, podendo ser dominantes ou recessivas, e **mutações de ganho de função**, que resultam em um produto gênico com função reforçada ou nova, sendo geralmente dominantes.

Qualquer tipo de mutação, desde uma mutação pontual até a deleção de um gene inteiro, pode acarretar a perda de função; as mutações que resultam na perda absoluta da função são chamadas de mutações nulas. Por outro lado,

o ganho de função pode ser devido a uma mudança na sequência de aminoácidos do polipeptídeo, atribuindo-lhe uma nova atividade, ou a uma mutação na região reguladora do gene, que o leva a se expressar em níveis mais elevados, ou à síntese do gene em ocasiões e locais incomuns.

Os genomas eucarióticos, como o humano, consistem principalmente em regiões não codificadoras, e provavelmente a maioria das mutações ocorre nessas regiões, que não contêm genes. Essas mutações são consideradas mutações neutras, se não afetam os produtos ou a expressão gênica.

Finalmente, devem-se distinguir duas classes de mutações, segundo o tipo de célula em que ocorrem e seus efeitos. As mutações que ocorrem nas células somáticas – **mutações somáticas** – acarretam maior prejuízo para o indivíduo. Nos adultos, se atingirem células em divisão, podem causar tumores e outras lesões degenerativas. Se atingirem um zigoto, embrião ou feto, essas mutações podem causar mosaïcismo, sendo que o grau deste último dependerá do período do desenvolvimento em que as mutações ocorreram.

As mutações que ocorrem nas células da linhagem germinativa – **mutações gaméticas** – são transmitidas às futuras gerações. Em geral não causam prejuízo ao seu portador, mas, dependendo do tipo de dano, poderão acarretar redução da fertilidade.

2.1.1.2 Mutações ou alterações cromossômicas

A estabilidade do número e da morfologia dos cromossomos em qualquer organismo é fundamental para o seu desenvolvimento harmonioso, resultando em um indivíduo física e psicologicamente normal. Como os cromossomos contêm os genes, qualquer mudança em sua estrutura ou número pode alterar a expressão gênica, produzindo um indivíduo fenotipicamente inviável ou anormal.

As alterações numéricas e estruturais dos cromossomos constituem as mutações cromossômicas que, como as mutações gênicas, consistem em uma fonte de variação importante para a evolução das espécies.

As mutações ou alterações cromossômicas podem ser classificadas em dois grandes grupos: **numéricas** e **estruturais**.

Alterações numéricas – As alterações numéricas correspondem à perda ou ao acréscimo de um ou mais cromossomos e podem ser de dois tipos: **euploidias** e **aneuploidias**. O termo *ploidia* refere-se ao número de genomas representado no núcleo, sabendo-se que genoma é todo material genético haploide de qualquer organismo.

As **euploidias** são alterações que envolvem todo o genoma, originando células cujo número de cromossomos é um múltiplo exato do número haploide característico da espécie. Os principais tipos de euploidias são:

Haploidia (n) – quando os cromossomos apresentam-se em dose simples como nos gametas. A haploidia pode ser um estado normal em alguns organismos. É considerada anormal quando ocorre nas células somáticas de organismos diploides e, nesse caso, os indivíduos excepcionais haploides são pequenos e geralmente estéreis.

Poliploidia – quando os cariótipos são representados por três (**triploidia**, $3n$), quatro (**tetraploidia**, $4n$) ou mais genomas. As poliploidias, embora inexpressivas em animais, são comuns nas plantas, constituindo um importante mecanismo evolutivo destas. Na espécie humana não se conhecem indivíduos que sejam totalmente poliploides ($3n$ ou $4n$). Quase todos os casos de triploidia ou tetraploidia são observados em abortos espontâneos. Os raros casos relatados que chegaram a termo ($3n$) eram natimortos ou tiveram morte neonatal (**Fig. 2.3**).

A triploidia pode ser causada por um erro na fase de maturação da ovogênese ou da espermatogênese, na divisão meiótica, levando, por exemplo, à retenção de um corpúsculo polar ou à formação de um espermatozoide diploide. A triploidia pode ser causada também pela fertilização de um óvulo por dois espermatozoides, fenômeno conhecido como **dispermia**.

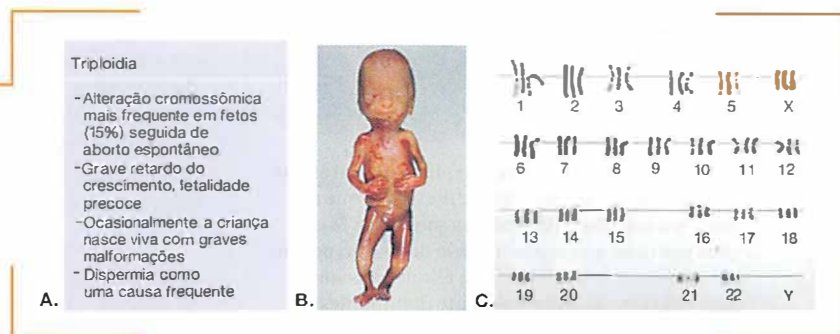
Células poliploides cujo número de cromossomos pode atingir até $16n$ são geralmente encontradas no fígado e na medula óssea, bem como em células de tumores sólidos e em leucemias.

As **aneuploidias** são alterações que envolvem um ou mais cromossomos de cada par, dando origem a múltiplos não exatos do número haploide característico da

Figura 2.3

Feto triploide (geralmente devido à fecundação de um óvulo por dois espermatozoides – dispermia). **A** – Características. **B** – Foto de um feto com triploidia. **C** – Cariótipo $3n$ mostrando três representantes de cada par cromossômico.

Fonte: Passarge.¹



espécie. Elas decorrem da **não disjunção** ou não separação de um ou mais cromossomos durante a anáfase I e/ou II da meiose ou na anáfase da(s) mitose(s) do zigoto. A não disjunção ocorre mais frequentemente durante a meiose e pode se dar tanto na primeira como na segunda divisão. Se ela ocorrer na primeira divisão, o gameta com o cromossomo em excesso, em vez de ter apenas um dos cromossomos de um determinado par, terá os dois cromossomos de um mesmo par, sendo um de origem materna e o outro de origem paterna. Se a não disjunção ocorrer na segunda divisão meiótica, ambos os cromos-

somos do mesmo par (no gameta que ficou com o excesso de cromossomos) serão de origem idêntica: ou materna ou paterna (**Fig. 2.4**).

A não disjunção pode ocorrer nas primeiras divisões mitóticas após a formação do zigoto. Isso poderá, no entanto, resultar na presença de duas ou mais linhagens celulares diferentes no mesmo indivíduo, fenômeno conhecido como **mosaicismo**.

A causa desse fenômeno é desconhecida. Sabe-se, porém, que em humanos os cromossomos acrocêntricos

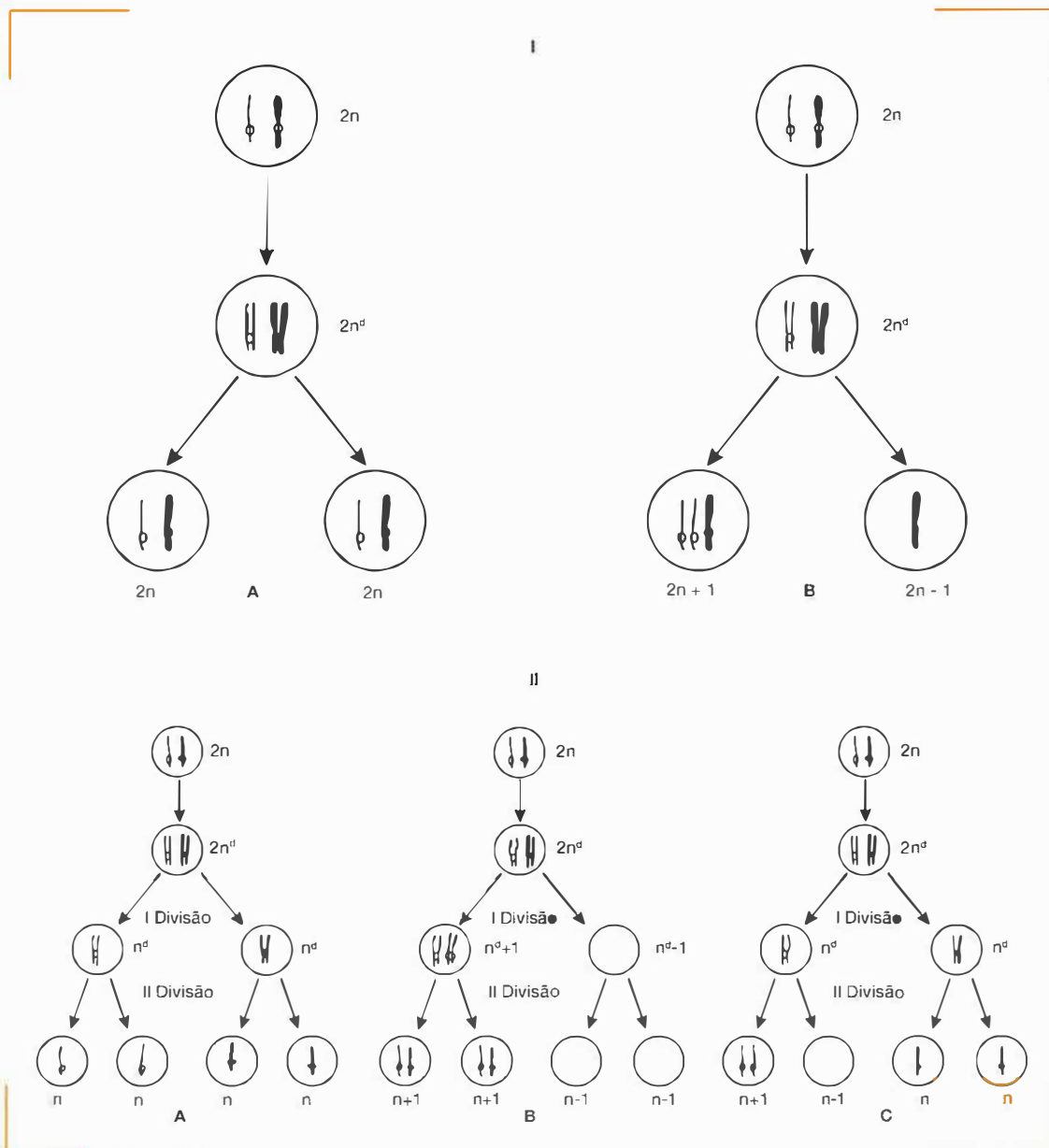


Figura 2.4

I – Representação esquemática da mitose. **A** – Normal. **B** – Não disjunção. II – Representação esquemática da meiose. **A** – Normal. **B** – Não disjunção na I divisão. **C** – Não disjunção na II divisão ($2n = 2$). Cromossomo de origem paterna (1); cromossomo de origem materna (2).

apresentam um risco maior de não disjunção; além disso, pode haver um efeito da idade na ovulogênese materna, já que o processo de formação dos gametas femininos estaciona por muitos anos no fim da prófase I (dictióteno), e a fertilização pode-se dar muito após a ovulação.

Outro mecanismo responsável pelas aneuploidias é a perda de um cromossomo, provavelmente devido a um “atraso” na separação de um dos cromossomos, durante a anáfase. A **Tabela 2.2** mostra as consequências da não disjunção dos cromossomos sexuais.

As principais aneuploidias são:

Nulissomia – quando há perda dos dois membros de um par cromossômico ($2n-2$). As nulissomias são, em geral, letais.

Monossomia – quando há perda de um dos cromossomos do par, isto é, quando o número de cromossomos da célula for $2n-1$. As perdas de cromossomos ou de segmentos cromossômicos têm-se mostrado mais deletérias do que a adição. Com exceção da monossomia do X (ver Cap. 4), os indivíduos com monossomias completas de qualquer autossomo são geralmente inviáveis. A monossomia completa do 21 é rara e poucos casos foram descritos, havendo incerteza no diagnóstico citogenético dos primeiros casos.

Trissomia – quando um mesmo cromossomo apresenta-se repetido três vezes ($2n+1$), em vez de duas, como seria normal. As trissomias são as alterações numéricas mais importantes sob o ponto de vista clínico. Como a maioria das alterações cromossômicas na espécie humana, elas estão, em geral, associadas a malformações congênitas múltiplas e deficiência mental. Exemplo: trissomia do cromossomo 21 ou síndrome de Down. Essas e outras anomalias ou síndromes cromossômicas são tratadas no Capítulo 4.

Outras aneuploidias mais raras são:

Tetrassomia – na qual um cromossomo está representado quatro vezes ($2n+2$). Exemplo: síndrome do tetra X ($44 + XXXX$ ou $48, XXXX$).

Trissomia dupla – corresponde à trissomia de dois cromossomos pertencentes a pares diferentes ($2n+1+1$).

Exemplo: trissomia do 21 e do par sexual ($44 + XXY + 21$ ou $48, XXY, + 21$).

Alterações estruturais – As alterações estruturais são mudanças na estrutura dos cromossomos, que resultam de uma ou mais quebras em um ou mais cromossomos, com subsequente reunião em uma configuração diferente, formando rearranjos balanceados ou não. Nos rearranjos balanceados, o complemento cromossômico é completo, sem perda nem ganho de material genético. Consequentemente, os rearranjos balanceados são praticamente inofensivos, com exceção dos raros casos em que um dos pontos de quebra danifica um gene funcional importante.

Quando um rearranjo cromossômico é não balanceado, o complemento cromossômico contém uma quantidade incorreta de material cromossômico e os efeitos clínicos são geralmente muito graves.

As quebras podem ocorrer espontaneamente ou pela ação de agentes externos, como radiações, drogas, vírus, etc. Cada quebra em um cromossomo ou cromátide produz duas extremidades, as quais podem ser envolvidas em um dos três tipos de eventos seguintes:

1. As extremidades rompidas podem se unir novamente, restaurando a estrutura original do cromossomo.
2. As extremidades rompidas não tornam a ligar-se e o segmento cromossômico acêntrico (sem centrômero) perde-se em uma divisão celular subsequente, enquanto o outro segmento, com o centrômero, fica deficiente.
3. Um ou mais segmentos quebrados de um cromossomo podem se unir a outro cromossomo ou a segmentos cromossômicos.

As alterações na estrutura dos cromossomos são classificadas em dois tipos: aquelas nas quais há **alteração no número de genes** – deleções, duplicações, cromossomos em anel e isocromossomos – e aquelas nas quais há **mudança na localização dos genes** – inversões e translocações.

Tabela 2.2 Consequências da não disjunção dos cromossomos sexuais

Situação	Óvulo	Espermatozoide	Consequência
Normal	X	Y	XY homem normal
Normal	X	X	XX mulher normal
Não disjunção feminina	XX	Y	XXY síndrome de Klinefelter
		X	XXX síndrome do triplo X
		Y	Y inviável
Não disjunção masculina (meiose I)	X	X	X síndrome de Turner
		XY	XXY síndrome de Klinefelter
		YY	YY inviável
Não disjunção masculina (meiose II)	X	XX	XXX síndrome do triplo X
		YY	XYY síndrome de Jacobs (duplo Y)
		X	X síndrome de Turner

Fonte: Modificada de Lewis.¹

Deleções ou **deficiências** – são perdas de segmentos cromossômicos, as quais podem ocorrer como resultado de uma simples quebra, sem reunião das extremidades quebradas – **deleção terminal** –, ou de uma dupla quebra, com perda de um segmento interno, seguida da soldadura dos segmentos quebrados – **deleção intersticial**. A **Figura 2.5A** mostra uma deleção terminal, na qual há perda do segmento AB. Esse segmento acêntrico se perderá na próxima divisão celular, com a consequente perda do material genético nele contido. Na **Figura 2.5B**, o segmento BC (intersticial) é também acêntrico e provavelmente também será perdido na divisão celular subsequente.

O efeito das deleções depende da quantidade e da qualidade do material genético perdido, mas geralmente as deficiências são danosas e produzem consequências graves. Exemplo: síndrome do *cri-du-chat* ou “miado-do-gato”, causada pela perda de um segmento do braço curto do cromossomo 5 (ver Cap. 4).

Duplicação – é a repetição de um segmento cromossômico, causando um aumento do número de genes.

A maioria das duplicações resulta de um *crossing-over* desigual entre cromátides homólogas, durante a meiose, produzindo segmentos adjacentes duplicados e/ou deletados (**Fig. 2.6**).

As duplicações são mais comuns e menos prejudiciais do que as deficiências, concluindo-se que o excesso de genes geralmente é menos prejudicial do que a falta deles. Esse tipo de alteração cromossômica estrutural é considerado importante sob o aspecto evolutivo, uma vez que genes duplicados podem, por mutação, dar origem a novos genes, com novas funções.

Atualmente, com auxílio de técnicas especiais (ver Cap. 4), pode-se detectar microdeleções e microduplicações submicroscópicas. As microduplicações em geral não são prejudiciais, mas certas microdeleções têm sido associadas a algumas síndromes.

Cromossomo em anel – é a alteração que ocorre quando um cromossomo apresenta duas deleções terminais e as suas extremidades, agora sem os telômeros, ten-

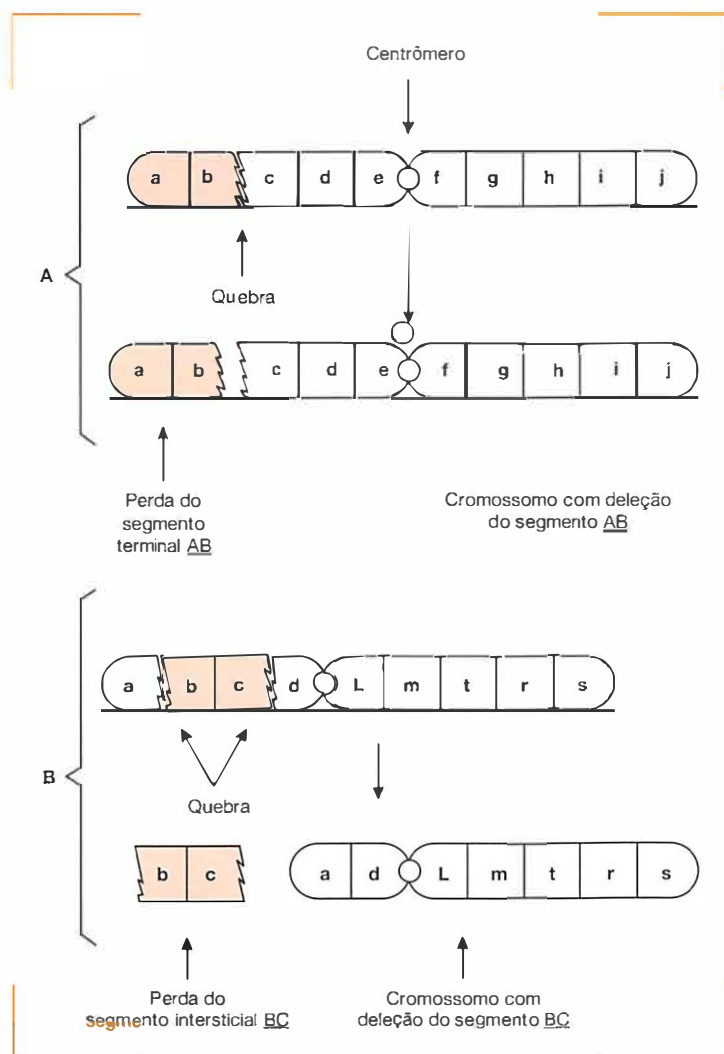


Figura 2.5

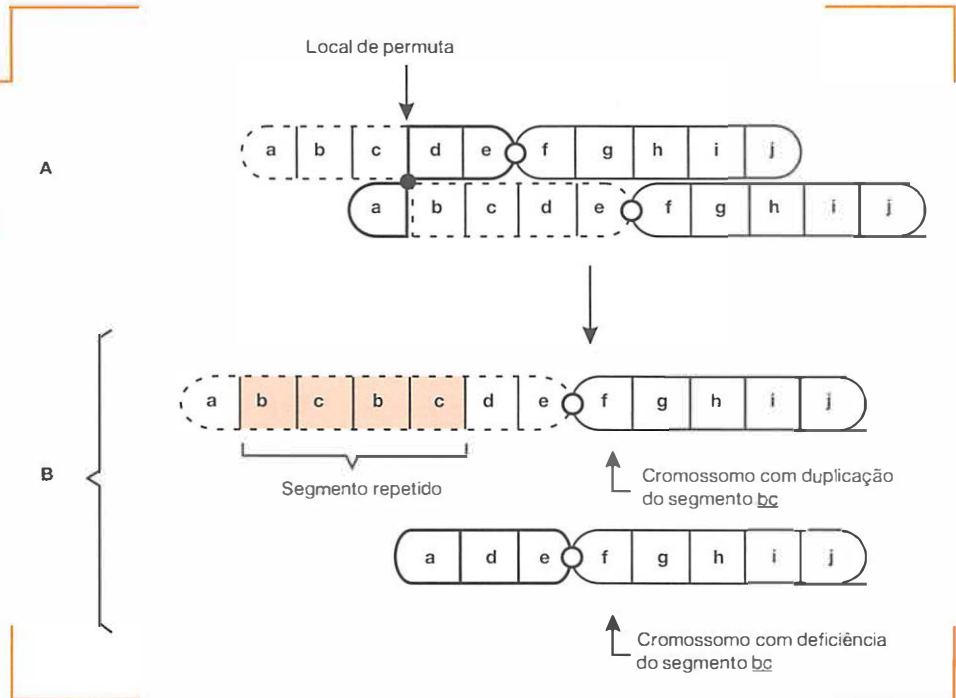
Deleções. **A** – Terminal. **B** – Intersticial.

Fonte: Modificada de Brewer e Sing.⁸

Figura 2.6

A – Permuta entre cromátides homólogos com pareamento desigual. **B** – Cromossomos resultantes.

Fonte: Modificada de Brewer e Sing.



dem a reunir-se, levando à formação de um cromossomo em anel (Fig. 2.7). Os fragmentos rompidos, acêntricos, perdem-se. Esse tipo de alteração estrutural geralmente apresenta instabilidade durante a divisão celular.

Isocromossomo – forma-se quando a divisão do centrômero, durante a divisão celular, dá-se transversalmente, em vez de longitudinalmente. Como consequência dessa divisão anormal, os dois cromossomos resultantes

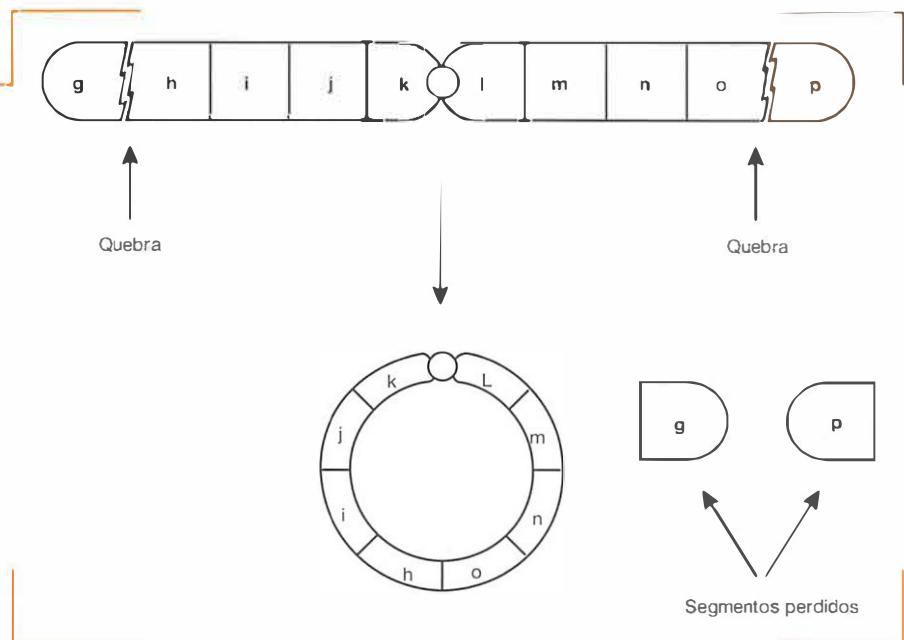
apresentam-se com braços iguais (metacêntricos), sendo duplicados para um dos braços originais e deficientes para o outro (Fig. 2.8A-E). A parte E da figura mostra uma fotomicrografia de um isocromossomo e o seu correspondente normal.

Inversão – é uma mudança de 180° na direção de um segmento cromossômico. Para ocorrer inversão, é necessária uma quebra em dois sítios diferentes do cro-

Figura 2.7

Formação de um cromossomo em anel.

Fonte: Modificada de Brewer e Sing.



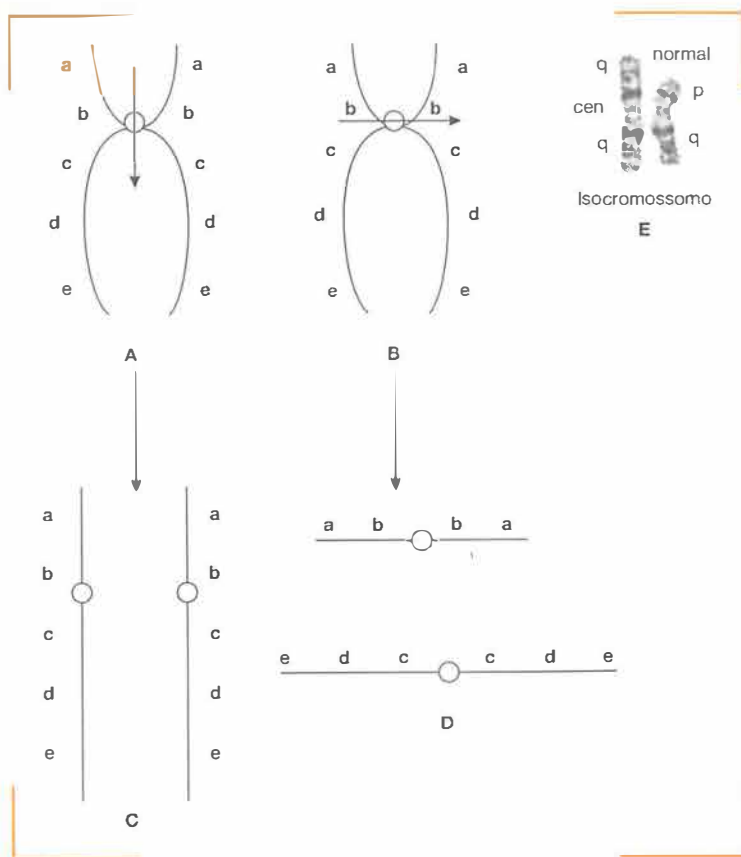


Figura 2.8

Formação de um isocromossomo. **A** – Divisão do centrômero no sentido longitudinal (normal). **B** – Divisão do centrômero no sentido transversal (anormal). **C** – Cromossomos resultantes da divisão normal. **D** – Cromossomos resultantes da divisão anormal. **E** – Fotomicrografia de um cromossomo normal, apresentando os braços **p** e **q** junto a um isocromossomo que apresenta dois braços **q** com ausência do braço **p**.

Fonte: Passarge.¹

mossomo, seguida pela reunião do segmento invertido. Dependendo do envolvimento ou não do centrômero, a inversão pode se diferenciar em **pericêntrica** (quando o centrômero situa-se dentro segmento invertido) e **paracêntrica** (quando o centrômero situa-se fora do segmento invertido) (Fig. 2.9A e B).

As inversões são rearranjos balanceados e raramente causam problemas nos portadores, a menos que um dos pontos de quebra danifique um gene funcional importante. Certas inversões que não causam qualquer problema clínico nos portadores balanceados podem causar significativo desequilíbrio cromossômico para a descendência, com importantes consequências clínicas. Esse desequilíbrio cromossômico é resultante de problemas de pareamento e segregação dos cromossomos durante a meiose, o que será tratado no Capítulo 4. Um indivíduo portador balanceado de uma inversão pericêntrica pode produzir gametas não balanceados, se ocorrer um *crossing-over* dentro do segmento invertido durante a meiose I, quando se forma uma alça de inversão do cromossomo, na tentativa de manter o pareamento dos segmentos homólogos na sinapse (ver Cap. 3). O resultado será um cromossomo normal, dois cromossomos recombinantes complementares, ambos com deleções de alguns segmentos e duplicações de outros, e um cromossomo com a inversão (Fig. 2.10).

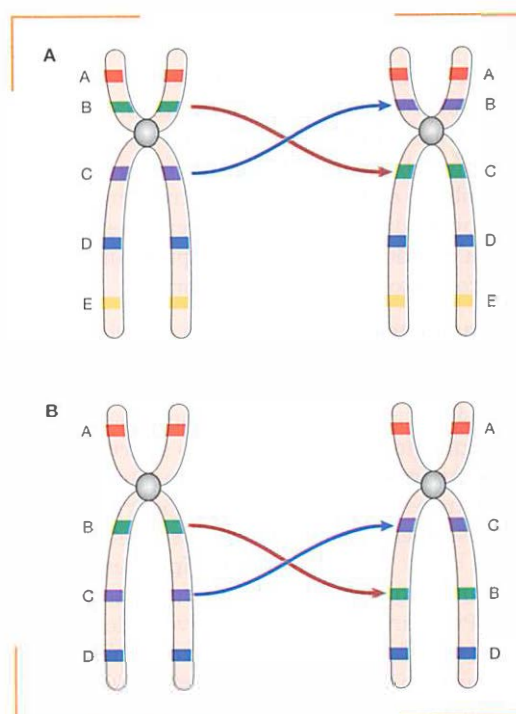
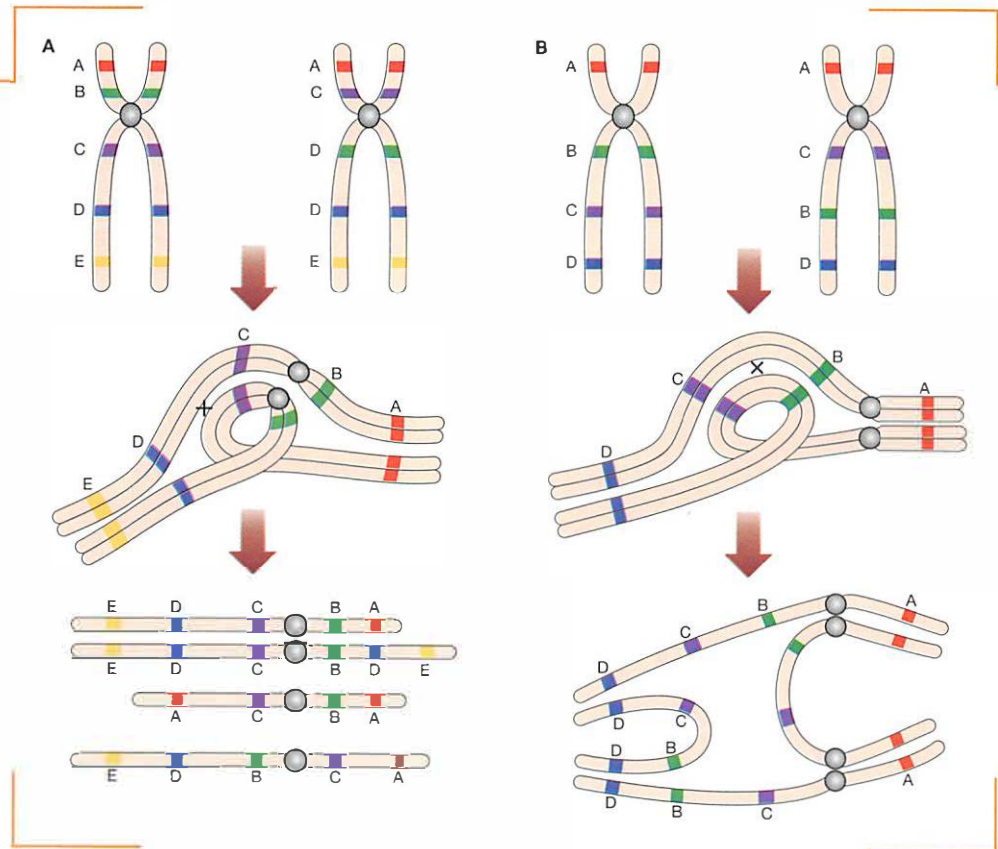


Figura 2.9

Inversões. **A** – Pericêntrica. **B** – Paracêntrica.

Figura 2.10

Mecanismo de produção de cromossomos não balanceados recombinantes de inversões pericêntrica (A) e paracêntrica (B) por *crossing over* em alça de inversão.



Se ocorrer um *crossing-over* no segmento invertido de uma inversão paracêntrica, resultarão: um cromossomo normal, cromossomos recombinantes acêntricos e dicêntricos, com deleções e duplicações de segmentos, além de um cromossomo com a inversão. Os cromossomos acêntricos são fragmentos cromossômicos que não podem sofrer divisão mitótica, tanto que a sobrevivência de um embrião com tal arranjo é extremamente rara. Os cromossomos dicêntricos são inerentemente instáveis durante a divisão celular, portanto praticamente incompatíveis com a sobrevivência do embrião.

Translocação – nesse tipo de alteração, há transferência de segmentos de um cromossomo para outro, geralmente não homólogo. As translocações ocorrem quando há quebra em dois cromossomos, seguida de troca dos segmentos quebrados. Podem ser **recíprocas** ou **não recíprocas**, e envolvem geralmente alterações na ligação entre os genes. Nas translocações **recíprocas**, há trocas de segmentos entre os cromossomos que sofreram quebras (**Fig. 2.11A**). Nas **não recíprocas**, o segmento de um cromossomo liga-se a outro, mas não há troca entre eles. Para tanto, é necessário haver pelos menos três quebras (**Fig. 2.11B e C**). Exemplo deste último tipo de translocação é o que ocorre entre os cromossomos 9 e 22. Um segmento do braço longo deste último é translocado para o cromossomo 9, ficando o 22 com uma deleção em seu braço longo e formando o chamado cromossomo Phi-

ladelphina, encontrado em leucócitos de indivíduos com leucemia mieloide crônica (ver Fig. 12.12, do Cap. 12).

As **translocações robertsonianas** (observadas pela primeira vez por Robertson, em 1916) ou **fusões centricas** formam um tipo especial de translocação, em que dois cromossomos acrocêntricos sofrem quebras nas regiões centroméricas, havendo troca de braços cromossômicos inteiros. Esse tipo de translocação pode ser exemplificado pela translocação D/G, sendo mais frequente a que ocorre entre os cromossomos 14 e 21, embora possa ocorrer também entre o 21 e qualquer um dos cromossomos dos grupos D ou G (ver Cap. 4).

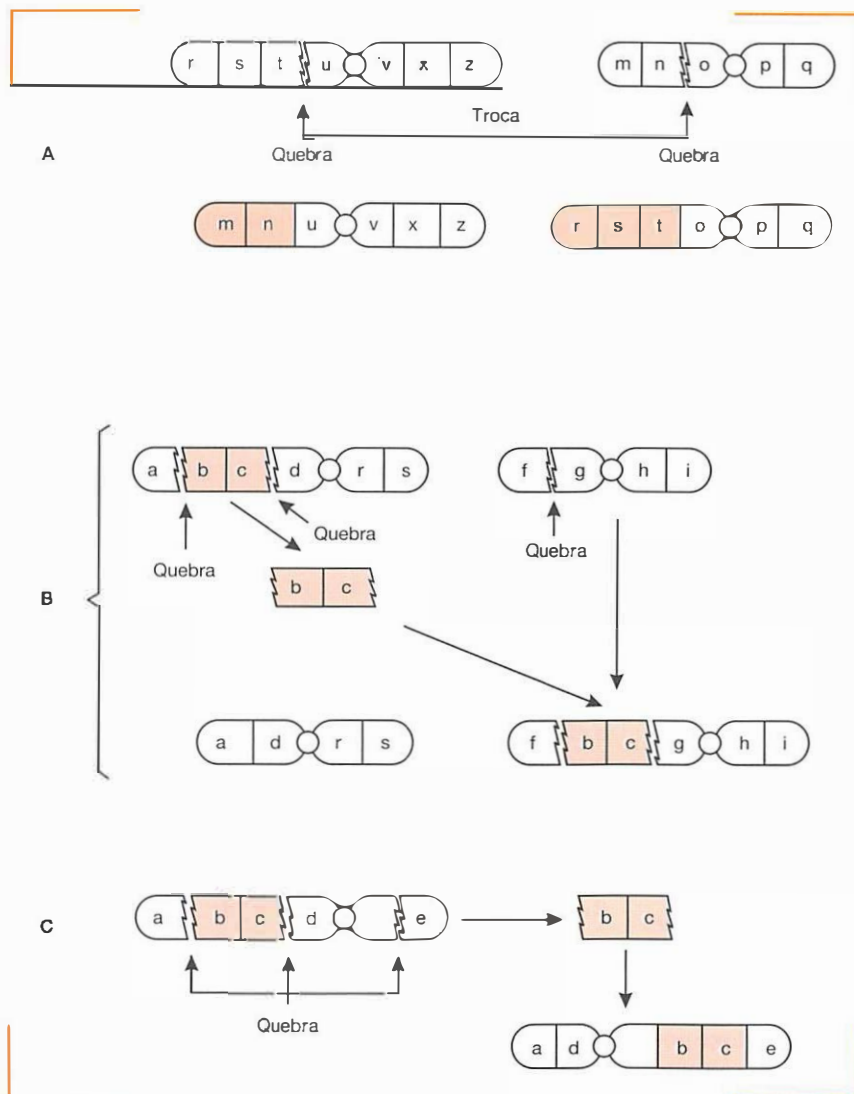
2.2 Agentes mutagênicos

2.2.1 Agentes físicos

Os principais agentes mutagênicos físicos são as radiações ionizantes e as radiações ultravioleta.

2.2.1.1 Radiações ionizantes

As radiações ionizantes são radiações de alta energia e pequeno comprimento de onda, como os raios X, raios gama, raios cósmicos e partículas emitidas por elementos radioativos (partículas alfa, partículas beta e nêutrons). A

**Figura 2.11**

Representação esquemática de translocação recíproca (A), translocação não recíproca entre cromossomos diferentes (B) e translocação não recíproca dentro do mesmo cromossomo (intersticial) (C).

Fonte: Modificada de Brewer e Sing.⁸

passagem dessas radiações pela célula provoca a liberação de elétrons, o que torna as moléculas altamente instáveis e suscetíveis a reações químicas. Tais substâncias se combinam com o DNA, causando erros no pareamento das bases durante a duplicação e rompendo as ligações açúcar-fosfato de modo a causar quebras cromossômicas.

As diversas fontes e doses anuais médias nos diferentes tipos de radiação ionizante natural e artificial são apresentadas na **Tabela 2.3**. As fontes naturais de radiação incluem os raios cósmicos, a radiação externa de materiais radioativos em certas rochas e a radiação interna de materiais radioativos em tecidos. As fontes artificiais compreendem a radiologia diagnóstica e terapêutica, a exposição ocupacional e a precipitação radioativa de explosões nucleares. Merecem atenção os seguintes aspectos:

- a. A quantidade de radiação recebida pelos tecidos irradiados é frequentemente referida como a “dose” de radiação, a qual é medida em função da **dose ab-**

sorvida de radiação ou **rad** (do inglês, *radiation absorbed dose*). O rad é uma medida da quantidade de qualquer radiação ionizante que é realmente absorvida pelos tecidos. Muitos efeitos da radiação ionizante dependem do volume de tecido exposto. No homem, a irradiação do corpo inteiro com uma dose de 300 a 500 rads geralmente é fatal, mas no tratamento de tumores malignos podem ser dadas doses de 10 mil rads a um pequeno volume de tecido, com efeitos menos graves.

- b. A espécie humana pode ser exposta a uma mistura de radiações, por isso a unidade *rem* (do inglês, *roentgen equivalent for man*) é adequada, já que é uma medida de qualquer radiação em função dos raios X. Um *rem* de radiação é a dose absorvida que produz, em um dado tecido, o mesmo efeito biológico que um rad de raios X. A expressão das doses de radiação em *rems* permite-nos comparar as quantidades de diferentes tipos de radiação a que a espécie humana está exposta.

Tabela 2.3 Doses médias aproximadas da radiação ionizante proveniente de várias fontes para as gônadas (população geral)

Fonte de radiação	Dose média por ano (mSv)*	Dose média em 30 anos (mSv)
Natural		
Radiação cósmica	0,25	7,5
Radiação gama externa	1,50	45,0
Radiação gama interna	0,30	9,0
Artificial		
Radiologia médica	0,30	9,0
Precipitação radiativa	0,01	0,3
Exposição ocupacional e outras	0,04	1,2
Total	2,40	72,0

* mSv = milisievert (milésimo de sievert).

Fonte: Mueller e Young.^b

- c. Um *milirem (mrem)* equivale a um milésimo de um *rem*; 100 *rem* equivalem a um *sievert (Sv)* e 100 rad equivalem a um *gray (Gy)*, em unidades internacionais padronizadas. Em termos práticos, *sieverts* e *grays* são aproximadamente iguais.
- d. A dose de radiação é expressa em relação à quantidade recebida pelas gônadas, porque os efeitos da radiação sobre as células germinativas são os mais importantes, na medida em que nos interessamos pela transmissão das mutações à futura prole. A **dose gonadal de radiação** é muitas vezes expressa como a quantidade de radiação recebida em 30 anos, período que corresponde aproximadamente ao tempo de uma geração em humanos.
- e. Há uma relação linear entre a dose de radiação e a taxa de mutações induzidas, sendo essa relação válida somente para doses pequenas, que correspondem à maioria das situações práticas, e para mutações que requerem apenas um evento primário.
- f. Para uma determinada dose de radiação, a exposição lenta causa menos mutações do que a realizada em um curto período de tempo. Como existem sistemas de reparo enzimático para as lesões do DNA, se a radiação for aplicada lentamente, essas enzimas eliminam as sequências danificadas e permitem o reparo da fita de DNA. Por outro lado, se a aplicação se der em um curto prazo, o sistema de reparo será insuficiente para um grande número de lesões.
- g. Não existe uma dose limiar de radiação abaixo da qual não sejam induzidas mutações, de modo que qualquer aumento na dose de radiação resulta em elevação proporcional da taxa de mutação.

- h. As doses de radiação têm efeito cumulativo no organismo, de modo que toda vez que uma pessoa estiver exposta à radiação, a dose da última radiação deve ser adicionada à quantidade de radiação já recebida.
- i. A suscetibilidade às mutações varia com o tipo de célula, o locus gênico, o sexo e os fatores do ambiente; de qualquer modo, os cromossomos são muito mais sensíveis à radiação do que os genes, pois, mesmo com doses muito pequenas aplicadas a longo prazo, há um aumento significativo na frequência de cromossomos acêntricos e dicêntricos, bem como de deleções.

Considera-se que a **dose máxima permissível de radiação** é um limite de segurança arbitrário, provavelmente muito menor do que aquela que causaria algum efeito significativo na frequência de mutações prejudiciais na população. Tem sido recomendado que a exposição ocupacional não exceda 50 mSv em um ano, e a exposição da população em geral seja inferior a 5 mSv no mesmo período. Entretanto, existe muita controvérsia sobre o que seja exatamente a dose permissível. No caso da radiologia médica, a dose de radiação resultante de um determinado procedimento tem de ser ponderada contra o efeito benéfico máximo para o paciente; na exposição ocupacional à radiação, os riscos têm de ser definidos, bem como providenciada a legislação adequada. Com relação aos perigos das precipitações radioativas de acidentes e explosões nucleares, as soluções parecem óbvias.

2.2.1.2 Radiações ultravioleta

As radiações ultravioleta (também chamadas raios UV) são menos energéticas e têm maior comprimento de onda do que as ionizantes. A **Figura 2.12** mostra as regiões do espectro eletromagnético e seus respectivos comprimentos de onda, observando-se que a energia de qualquer radiação do espectro varia inversamente ao seu comprimento de onda. Quando interagem com a maioria das moléculas orgânicas, as ondas do âmbito da luz visível, ou mais longas, são benignas; entretanto, as ondas de menor comprimento do que o da luz visível, por serem mais energéticas, têm potencial para desorganizar as moléculas orgânicas. Por exemplo, as purinas e pirimidinas absorvem mais intensamente os raios UV com comprimento de onda com cerca de 260 nm. Um dos principais efeitos mutagênicos dos raios UV no DNA é a criação de **dímeros de pirimidina**, que consistem em duas pirimidinas idênticas, particularmente os dímeros formados por duas timinas, impedindo seu pareamento com a adenina (**Fig. 2.13**). Esses dímeros distorcem a conformação do DNA e inibem sua replicação normal. Conseqüentemente, podem ser introduzidos erros na sequência de bases do DNA e durante a replicação. Quando a dimerização induzida pelos raios UV é extensa, é responsável (ao menos parcialmente) pelos efeitos mortais da radiação UV sobre as células.

Os raios UV causam, portanto, mutações pontuais, mas poucos defeitos estruturais. Para as células germi-

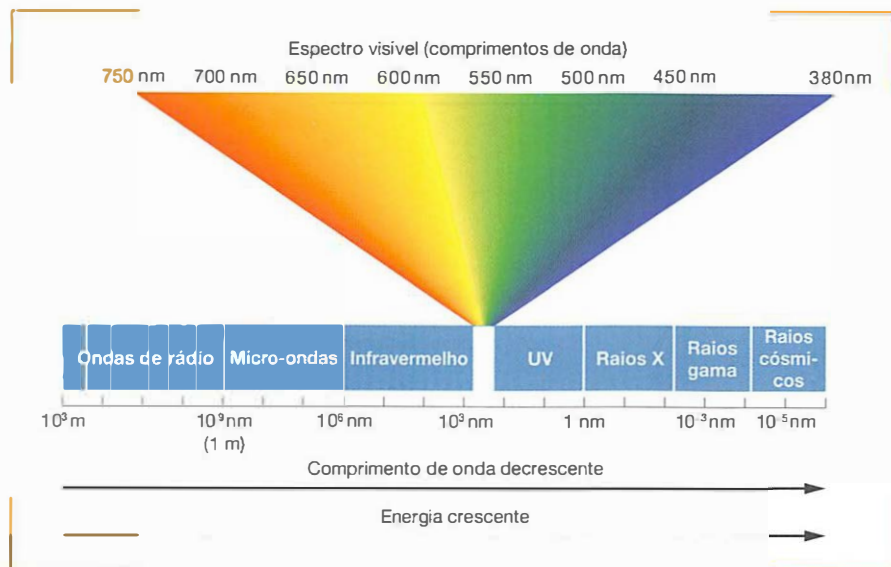


Figura 2.12

As regiões do espectro eletromagnético e seus respectivos comprimentos de ondas.

Fonte: Klug e colaboradores.

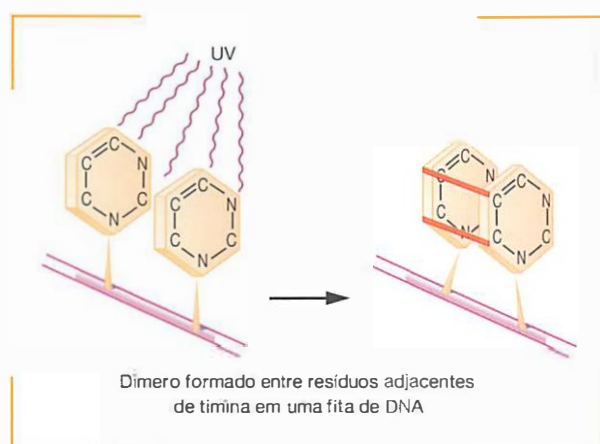


Figura 2.13

Indução de um dímero de timina por radiação UV, levando à distorção do DNA. As ligações covalentes ocorrem entre os átomos do anel pirimidínico.

Fonte: Klug e colaboradores.

nativas, não são prejudiciais, já que são absorvidos na epiderme, mas podem induzir mutações somáticas e câncer na pele.

2.2.1.3 Efeitos biológicos das radiações

Os efeitos biológicos das radiações dependem da localização da fonte (dentro ou fora do organismo), do tipo de radiação, de sua energia e das características do material que as absorve (densidade, conteúdo hídrico, etc.).

Embora o DNA possa ser alterado por vários fatores, existe uma proteção natural contra as mutações: (a) A redundância do código genético ajuda a realizar essa

proteção, já que códons redundantes garantem que muitas alterações na base da terceira posição sejam “silenciosas”, isto é, não alterem o aminoácido codificado e, por extensão, a proteína resultante. Mesmo quando ocorrem na base da segunda posição, as mutações que acarretam a substituição de um aminoácido por outro de conformação semelhante talvez não modifiquem drasticamente a proteína resultante. (b) A posição em que a substituição de aminoácido ocorre na proteína também pode representar um fator protetor contra as mutações. Uma mutação pode acarretar a substituição de um aminoácido muito diferente do original, mas isso talvez não afete o fenótipo, se a mutação ocorrer em uma parte da proteína que não seja crítica à sua função. Por exemplo, certas mutações no gene da β -globina da hemoglobina não causam anemia, mas podem alterar a migração da proteína em um campo elétrico (ver Cap. 9). (c) Uma mutação pode ter efeito condicional, afetando o fenótipo apenas sob determinadas condições. Por exemplo, na deficiência da enzima glicose-6-fosfatodesidrogenase (G6PD; ver Cap. 10), a anemia desenvolve-se apenas sob ingestão de substâncias oxidantes.

Além desses fatores protetores, existem sistemas de reparo (ver seção 2.3 deste capítulo) que amenizam o efeito dos agentes mutagênicos.

2.2.2 Substâncias químicas

Os efeitos das substâncias químicas sobre o material genético são mais variados do que os das radiações. Os principais mutagênicos químicos são os **análogos de bases**, os **compostos com ação direta**, os **agentes alquilantes** e os **corantes de acridina**. Sua ação sobre a molécula do DNA é mais conhecida, podendo causar não disjunção meiótica, quebras cromossômicas e mutações pontuais (Fig. 2.14).

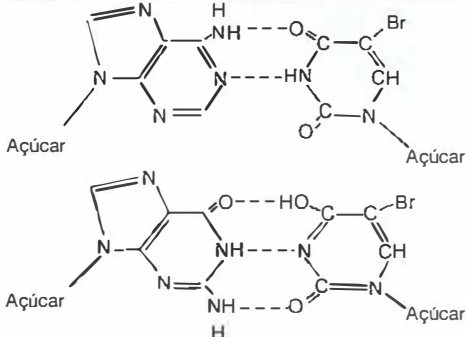
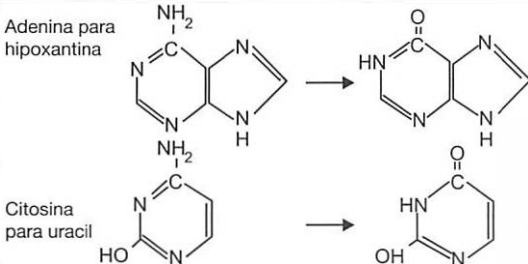
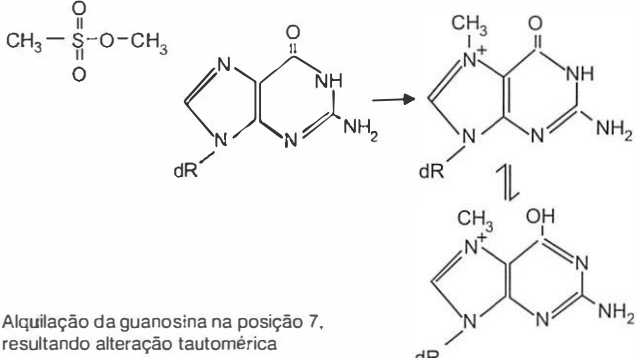

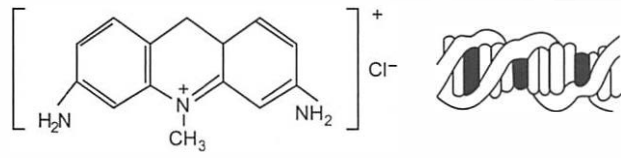
MUTAGÊNICOS	MECANISMO
<p>Análogos de base: (5-bromouracil)</p> <p>Incorporação durante a divisão</p>	 <p>1. BrdU é incorporada durante a replicação. 2. BrdU sofre mudança tautomérica mais frequentemente do que a timina. 3. Na forma enólica, a BrdU pareia com a guanina.</p>
<p>Compostos com ação direta: Desaminação da adenina e da citosina no DNA</p>	 <p>Adenina para hipoxantina Base pareando como a guanina</p> <p>Citosina para uracil Base pareando como a timina</p>
<p>Agentes alquilantes: Metilmetanosulfonato (MMS)</p>	 <p>Alquilação da guanosina na posição 7, resultando alteração tautomérica</p>
<p>Hidroxilaminas</p>	 <p>1. Hidroxilaminas reagem com citosina, formando derivados que são N-hidroxilados em 4-, 6-, ou em ambas as posições. 2. Os derivados estão em um estado tautomérico da citosina, podendo parear com a adenina, em vez da guanina.</p>
<p>Corantes de acridina</p>	 <p>1. A molécula de acridina é intercalada na dupla-hélice de DNA. 2. Isso faz com que a transcrição do segmento de DNA leve a uma mutação sem sentido.</p>

Figura 2.14

Mecanismos moleculares das mutações gênicas causadas por substâncias químicas.

BrdU = bromodesoxiuridina.

Fonte: Vogel e Motulsky.

Os **análogos de bases** são substâncias cuja estrutura química é tão semelhante à das bases nitrogenadas que podem ser incorporadas ao DNA, substituindo-as durante a replicação deste. Um exemplo é o análogo de base 5-bromouracil (5-BU), um derivado da uracil que se comporta como análogo da timina e pode incorporar-se ao DNA em seu lugar, durante a replicação. Quando o 5-BU liga-se quimicamente à desoxirribose, forma-se o nucleosídeo análogo bromodesoxiuridina (BrdU). Na **Figura 2.15**, são comparadas as estruturas de 5-BU e timina. Se o 5-BU for incorporado ao DNA em lugar da timina, e ocorrer uma mudança para sua forma enólica, ele pareia com a guanina. Depois de um ciclo de replicação, o par A=T muda para G=C. Além disso, a presença de 5-BU no DNA aumenta a sensibilidade dessa molécula à radiação ultravioleta, que, por si, é mutagênica.

Outra substância mutagênica é a 2-aminopurina, que pode agir como análoga de base da adenina. Além de sua afinidade de pareamento com a timina, a 2-aminopurina também pode parear com a citosina, levando o par A=T para G=C.

Os **compostos com ação direta** não são incorporados ao DNA, mas modificam diretamente a estrutura

das bases. Uma dessas substâncias é o ácido nitroso (HNO_2), responsável pela desaminação da adenina e da citosina, fazendo com que a primeira se altere para hipoxantina, que pareia com a citosina e não com a timina, enquanto a citosina se modifica em uracil, que pareia com a adenina e não com a guanina.

Os **agentes alquilantes** (mostardas nitrogenadas, ésteres do ácido metilsulfônico) constituem os mais potentes mutagênicos. Eles doam um grupo alquila, como CH_3 ou CH_3CH_2 , para os grupos amino ou cetona dos nucleotídeos. Por exemplo, o etilmetanossulfonato age sobre a guanina, enfraquecendo sua ligação com a desoxirribose. A guanina assim é perdida e, em seu lugar, pode entrar qualquer base.

Os **corantes de acridina** (como a proflavina e o laranja de acridina) ligam-se ao DNA, inserindo-se entre bases adjacentes. Isso ocasiona, durante a replicação do DNA, distorção da hélice de DNA e mudanças na fase de leitura, resultando em adição ou deleção de nucleotídeos.

Além dessas substâncias, existem outras, como a cafeína, que interferem no sistema de reparo do DNA, inibindo a síntese das purinas e produzindo, conseqüentemente, quebras e deleções na molécula do DNA.

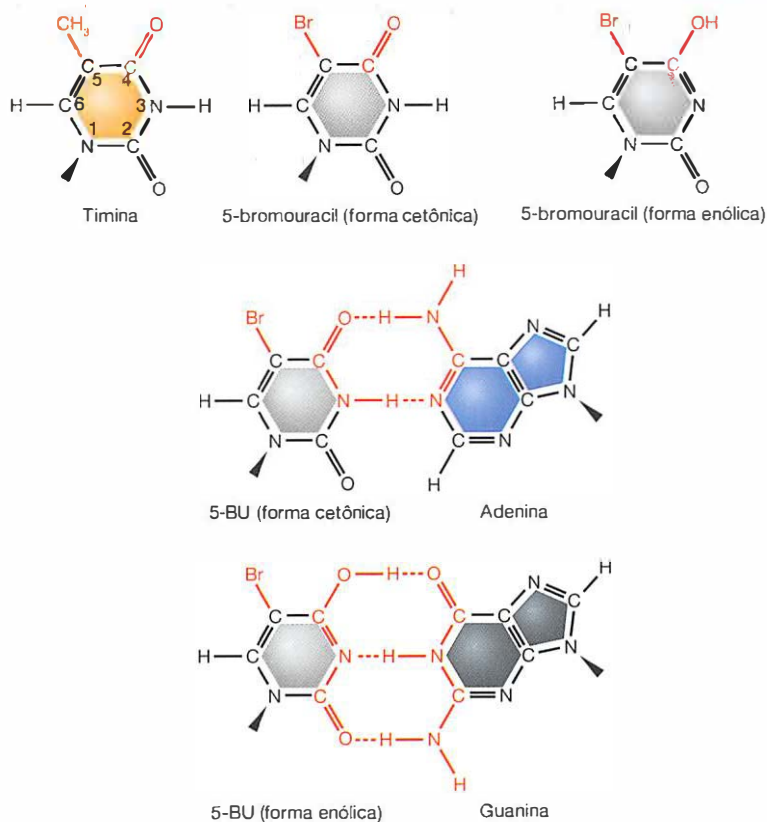


Figura 2.15

Semelhança entre as estruturas do 5-bromouracil e da timina. Na forma comum, a cetônica, o 5-BU pareia normalmente com a adenina, comportando-se como um análogo da timina. Na forma rara, a enólica, ele pareia anormalmente com a guanina.

Fonte: Klug e colaboradores.

Por outro lado, os mutagênicos químicos integram-se ao sistema metabólico do organismo, sendo convertidos em outros compostos que podem tanto perder sua capacidade mutagênica como adquirir mutagenicidade. Este é o caso da ciclofosfamida, uma substância citostática, antitumoral, que originalmente não é mutagênica, mas, nos mamíferos, é convertida em compostos altamente mutagênicos.

Embora os mutagênicos químicos atuem de maneira diversificada, há estágios da gametogênese mais sensíveis à maioria deles, sendo particularmente vulneráveis, no homem, as espermátides e os espermatozoides e, na mulher, as oogônias e os oócitos.

A mutagenicidade de compostos químicos encontrados na poluição do ar e da água, nos conservantes de alimentos, adoçantes artificiais, herbicidas, pesticidas e produtos farmacêuticos, que penetram no organismo humano por meio da pele ou pelos sistemas digestório e respiratório, pode ser testada em vários organismos, mas geralmente é avaliada por um teste concebido na década de 1970, chamado **teste de Ames**. Esse teste usa linhagens da bactéria *Salmonella typhimurium* selecionadas por sua capacidade de revelar a presença de tipos específicos de mutações, e serviu para descobrir que, entre os carcinógenos conhecidos, mais de 80% eram fortes mutagênicos. Embora uma resposta positiva no teste de Ames não prove que um componente é carcinogênico, esse teste é útil como instrumento preliminar de triagem.

2.3 Sistemas de reparo

Qualquer dano que introduza uma alteração na dupla-hélice do DNA representa uma ameaça à constituição genética da célula. Em geral, esse dano é reconhecido e corrigido por sistemas de reparo tão complexos e importantes para a célula quanto o mecanismo de replicação do DNA. No entanto, esses sistemas podem falhar, e, nesse caso, o dano em questão se converte em uma mutação, com possíveis consequências prejudiciais à célula.

A importância do reparo do DNA em eucariotos é comprovada pela identificação de mais de uma centena de genes de reparo no genoma humano. Os sistemas de reparo podem ser classificados em vários tipos, apresentados na **Figura 2.16**.

2.3.1 Reparo direto

O reparo direto é raro e envolve a reversão ou a simples remoção do dano. Um exemplo é o *reparo por fotorreativação*, em que o dano causado pela luz UV (formação de dímeros de timina) é parcialmente revertido se as células lesadas forem expostas à luz azul do espectro visível, dependendo também da clivagem das ligações entre

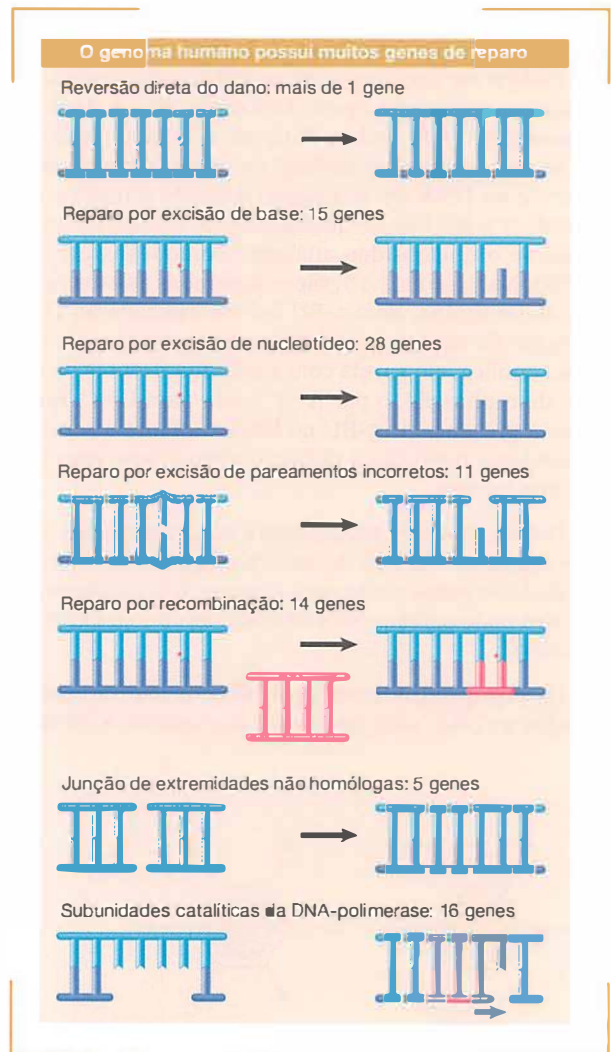


Figura 2.16

Os genes de reparo podem ser classificados em vias que utilizam diferentes mecanismos para reverter ou desviar do DNA danificado.

Fonte: Lewin.⁴

os dímeros de timina por uma enzima de fotorreativação denominada PRE (do inglês, *photoreactivation enzyme*). Esse sistema de reparo é encontrado na natureza, especialmente em plantas, mas não é observado em humanos e outros organismos.

2.3.2 Reparo por excisão

Os sistemas de *reparo por excisão* podem ser subdivididos em *reparo por excisão de base*, *reparo por excisão de nucleotídeo* e *reparo de pareamento incorreto*. Os reparos por excisão de base e de nucleotídeo consistem nos

seguintes passos: (a) o dano presente em uma das fitas de DNA é reconhecido e eliminado enzimaticamente por uma endonuclease; (b) uma DNA-polimerase preenche esse espaço com a inserção de nucleotídeos complementares aos da fita intacta usada como molde replicativo; (c) a DNA-ligase sela o “corte”, fechando o espaço. O primeiro subtipo corrige o dano causado às bases nitrogenadas pela hidrólise espontânea ou por ação de substâncias químicas; o segundo corrige lesões do DNA que alteram ou distorcem a dupla-hélice, como no caso dos dímeros de pirimidinas (ver seção 2.2.1.2 deste capítulo).

No caso do dano causado pela radiação ultravioleta em humanos, o reparo por excisão de nucleotídeo é mais complexo, envolvendo vários genes e proteínas. Grande parte do conhecimento desse subtipo de reparo foi obtida por meio de estudos minuciosos de pacientes com **xeroderma pigmentosa**, uma doença autossômica recessiva caracterizada por sardas, nódulos córneos e áreas de atrofia na pele, bem como profunda sensibilidade à luz solar, que predispõe os afetados a anormalidades na pele e câncer (ver síndromes de deficiência do reparo do DNA, no Cap. 12). Há pelo menos sete genes envolvidos no reparo por excisão de nucleotídeo (*XPA* a *XPG*, genes de xeroderma pigmentosa de A a G). Um complexo proteico que inclui produtos de vários genes *XP* é responsável pela excisão dos dímeros de timina. De modo simplificado, esse reparo se inicia pelo desenrolamento das fitas de DNA junto à lesão por um fator de transcrição ($TF_{II}H$) e produtos de alguns genes *XP* com atividade de **helicases**; em seguida, **endonucleases** codificadas por outros genes *XP* quebram a sequência de DNA que contém o

dímero, enquanto uma **exonuclease** remove os nucleotídeos alterados. Na segunda etapa desse reparo, há a reconstrução do trecho removido, com o auxílio de uma **DNA-polimerase**, e sua união à cadeia nucleotídica, pela ação de uma **DNA-ligase** (Fig. 2.17).

Os pacientes com xeroderma pigmentosa são incapazes de produzir as endonucleases específicas para o dímero de pirimidina, por isso as lesões não são reparadas, e os raios solares ultravioleta provocam queimaduras que frequentemente evoluem para tumores letais.

O **reparo de pareamento incorreto** é realizado pela varredura do DNA em busca de bases que não estão pareadas adequadamente. Nos pareamentos incorretos que surgem durante a replicação, em geral a sequência de fitas recém-sintetizadas (“fitas novas”) é corrigida, mediante reparo por excisão semelhante aos já descritos.

2.3.3 Reparo por recombinação homóloga

Esse tipo de reparo lida com quebras da dupla-hélice do DNA em eucariotos, em consequência de exposição a radiações ionizantes, por exemplo. Esses danos podem levar a rearranjos cromossômicos, doenças síndrômicas (como a anemia de Fanconi e a ataxia-telangiectasia; ver Cap. 12) e morte celular.

O primeiro passo desse processo envolve uma enzima que reconhece a quebra da fita dupla e digere as extremidades 5' da hélice de DNA rompida, deixando pendentes as extremidades 3'. Uma dessas extremidades procura uma região de complementaridade na cromátide-irmã e,

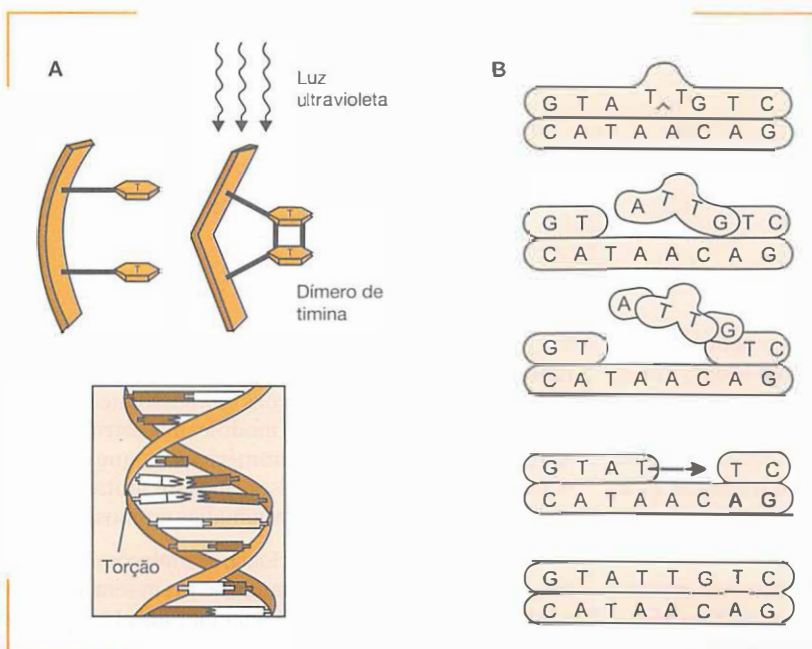


Figura 2.17

Reparo do DNA por excisão de nucleotídeos. **A** – Sob a ação da luz ultravioleta, podem-se formar dímeros de pirimidinas (timina ou citosina), por meio de ligações covalentes entre bases pirimídicas adjacentes, os quais deformam o DNA, impedindo o pareamento normal de bases. **B** – O dímero e as bases adjacentes são cortados pelas endonucleases, removidos pela exonuclease e substituídos por nova sequência idêntica, com o auxílio da DNA-polimerase e da DNA-ligase e usando-se como molde o filamento complementar de DNA.

Fonte: Jorde e colaboradores.⁸

então, invade a região homóloga da cromátide-irmã, alinhando as sequências complementares. Assim, a síntese de DNA continua a partir da extremidade 3' pendente, na região danificada, usando a fita íntegra de DNA como molde. Essa interação entre as cromátides-irmãs é necessária porque, como ambas as fitas de uma hélice de DNA estão rompidas, não existe uma fita parental íntegra que possa servir de sequência-molde para o reparo. A seguir, a molécula heterodúplíce é resolvida, e as cromátides-irmãs se separam. Esse processo de reparo ocorre geralmente após a replicação do DNA, no fim da fase S ou na fase G₂ do ciclo celular, momento em que as cromátides-irmãs estão disponíveis para serem utilizadas como mol-des para o reparo; por isso se diz que o reparo por recombinação homóloga é acurado (**Fig. 2.18**).

2.3.4 Reparo por junção de extremidades não homólogas

É também um tipo de reparo de quebra da dupla-hélice do DNA, em que o sistema pode unir extremidades de DNA não homólogas. Esse sistema é ativado na fase G₁ do ciclo celular, portanto antes da replicação do DNA; como algumas sequências nucleotídicas são perdidas no momento da junção, diz-se que esse sistema de reparo é sujeito a erros.

2.3.5 Reparo por subunidades catalíticas da DNA-polimerase

Muitas DNA-polimerases podem ressintetizar segmentos de DNA, para reposição. Em geral, essas enzimas utilizam-se do mecanismo de revisão para verificar as sequências das fitas-filhas e remover erros.

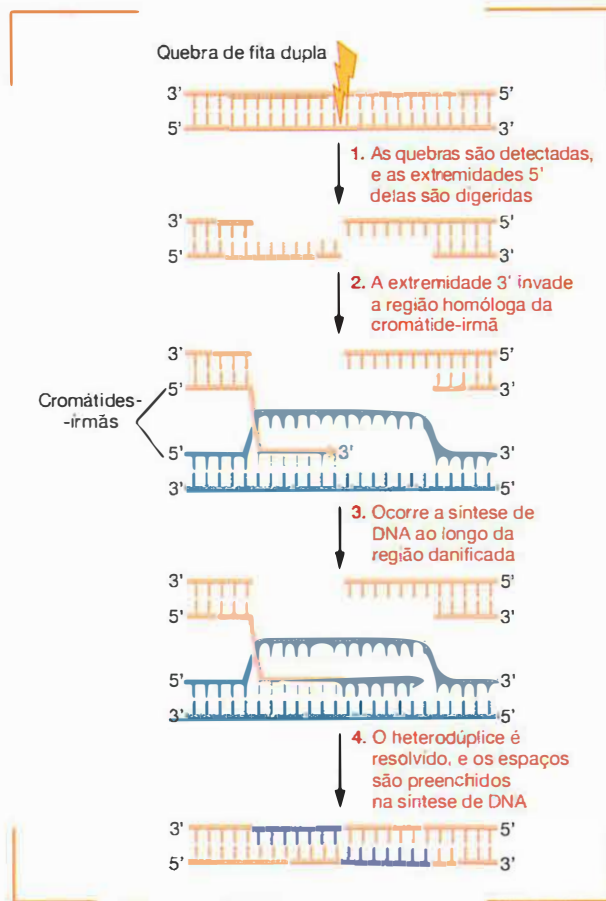


Figura 2.18

Etapas do reparo de quebras de fita dupla por recombinação homóloga.

Fonte: Klug e colaboradores.⁷



Resumo

As alterações hereditárias do material genético de um organismo, decorrentes de erros de replicação antes da divisão celular e não causadas por recombinação ou segregação, são denominadas mutações. O termo mutante refere-se a um fenótipo incomum ou à expressão do gene que sofreu a mutação. O fenótipo comum ou a expressão fenotípica do gene inalterado é denominado tipo selvagem.

As modificações hereditárias que ocorrem em um locus gênico específico são chamadas mutações gênicas, de ponto ou pontuais, que podem envolver substi-

tuição, adição ou perda de uma única base. Se as modificações forem maiores, alterando os cromossomos, elas são denominadas mutações cromossômicas, sendo mutações estruturais as que modificam a estrutura dos cromossomos e mutações numéricas as que alteram o seu número. Em geral, esses tipos de mutações são denominados alterações ou anomalias cromossômicas.

De acordo com a sua etiologia, as mutações são classificadas em espontâneas, quando ocorrem sem que haja a interferência conhecida de qualquer agente capaz de provocá-las, e induzidas, quando ocorrem em frequência

umentada pela ação de agentes físicos e/ou químicos conhecidos, denominados agentes mutagênicos.

A frequência de mutações denomina-se taxa de mutação e é expressa pelo número de mutações por locus, por gameta e por geração. Na espécie humana, a taxa média de mutações está em torno de 1/100.000/locus/geração. Essa taxa pode ser aumentada pela ação de agentes mutagênicos.

As mutações gênicas podem ser de três tipos: por substituição de base, por perda ou deleção de base e por adição ou inserção de base.

As mutações por substituição apresentam denominações diferentes, de acordo com o tipo de bases que envolvem. Quando a substituição abrange bases do mesmo tipo, isto é, substituição de uma purina por outra purina ou de uma pirimidina por outra de igual tipo, ela é denominada transição. Quando a substituição envolve bases de tipos diferentes, isto é, troca de uma purina por uma pirimidina, ou vice-versa, a mutação chama-se transversão.

Quando a substituição de base ocasiona a troca de um aminoácido, denomina-se mutação com sentido trocado ou incorreto, e seu efeito sobre a proteína depende da natureza da substituição do aminoácido.

Conforme seu efeito, as substituições podem ser diretas, reversas, silenciosas ou neutras.

As mutações ainda podem ser classificadas em mutações estáveis ou fixas, quando são transmitidas inalteradas às gerações seguintes, e mutações instáveis ou dinâmicas, quando sofrem alterações ao serem transmitidas nas famílias.

Segundo seus efeitos fenotípicos, as mutações podem ser classificadas em mutações de perda de função – que reduzem ou eliminam a função de seu produto gênico, podendo ser dominantes ou recessivas – e mutações de ganho de função, que resultam em um produto gênico com função reforçada ou nova, sendo geralmente dominantes.

As mutações que ocorrem nas células somáticas são denominadas mutações somáticas, causando maior prejuízo para o indivíduo. As mutações que ocorrem nas células da linhagem germinativa, ou mutações gaméticas, são transmitidas às futuras gerações. Em geral, não causam prejuízo ao seu portador, mas, dependendo do tipo de dano, poderão acarretar redução da fertilidade.

As mutações ou alterações cromossômicas podem ser classificadas em dois grandes grupos: numéricas e estruturais. As alterações numéricas correspondem à perda ou ao acréscimo de um ou mais cromossomos e podem ser de dois tipos: euploidias e aneuploidias. As euploidias são alterações que envolvem todo o geno-

ma, originando células cujo número de cromossomos é um múltiplo exato do número haploide característico da espécie. As aneuploidias são alterações que envolvem um ou mais cromossomos de cada par, dando origem a múltiplos não exatos do número haploide característico da espécie. Elas decorrem da não disjunção ou não separação de um ou mais cromossomos durante a anáfase I e/ou II da meiose ou na anáfase da(s) mitose(s) do zigoto.

As alterações estruturais são mudanças na estrutura dos cromossomos, que resultam de uma ou mais quebras em um ou mais cromossomos, com subsequente reunião em uma configuração diferente, formando rearranjos balanceados ou não. As alterações na estrutura dos cromossomos são classificadas em dois tipos: aquelas nas quais há alteração no número de genes – *deleções*, *duplicações*, *cromossomos em anel* e *isocromossomos* – e aquelas nas quais há mudança na localização dos genes – *inversões* e *translocações*. As translocações robertsonianas (observadas pela primeira vez por Robertson, em 1916) ou fusões cênicas formam um tipo especial de translocação, em que dois cromossomos acrocênicos sofrem quebras nas regiões centroméricas, havendo troca de braços cromossômicos inteiros.

Os principais agentes mutagênicos físicos são as radiações ionizantes e as radiações ultravioleta.

Os efeitos biológicos das radiações dependem da localização da fonte (dentro ou fora do organismo), do tipo de radiação, de sua energia e das características do material que as absorve (densidade, conteúdo hídrico, etc.).

Os principais mutagênicos químicos são os análogos de bases, os compostos com ação direta, os agentes alquilantes e os corantes de acridina. Sua ação sobre a molécula do DNA é mais conhecida, podendo causar não disjunção meiótica, quebras cromossômicas e mutações pontuais.

Qualquer dano que introduza uma alteração na dupla-hélice do DNA representa uma ameaça à constituição genética da célula. Em geral, esse dano é reconhecido e corrigido por sistemas de reparo tão complexos e importantes para a célula quanto o mecanismo de replicação do DNA. No entanto, esses sistemas podem falhar, e nesse caso o dano em questão se converte em uma mutação, com possíveis consequências prejudiciais à célula.

A importância do reparo do DNA em eucariotos é comprovada pela identificação de mais de uma centena de genes de reparo no genoma humano. Os sistemas de reparo podem ser classificados em vários tipos, como reparo direto, reparo por excisão e reparo por recombinação homóloga, entre outros.



Teste seu conhecimento

1. Conceitue: mutações e seus vários tipos, de acordo com a Tabela 2.1.
2. Que outros tipos de mutação são conhecidos?
3. Quais são os dois grandes grupos de alterações cromossômicas?
4. Das alterações cromossômicas apresentadas neste capítulo, quais são, na sua opinião, as mais prejudiciais para a nossa espécie? Por quê?
5. Quais são os principais agentes mutagênicos físicos e como se dá sua ação?
6. Quais são os principais agentes mutagênicos químicos e como se dá sua ação?
7. Quais são os sistemas de reparo mais utilizados em células de eucariotos?

Exercícios

1. Observe as sequências abaixo de DNA, RNA e polipeptídica, respectivamente, de um segmento normal:
 DNA: ATG CAG GTG ACCTCAATG
 TAC GTCCAC TGG AGT TAC
 RNA: AUG CAG GUG ACC UCA AUG
 Cadeia polipeptídica: **MET – GLN – VAL – TRE – SER – FIM**

 Identifique as seguintes mutações, bem como se os respectivos produtos são funcionais ou não:
 - a. DNA: ATG CAG **CTG** ACCTCA ATG
 TAC GTC **GAC** TGG AGTTAC
 RNA: AUG CAG **CUG** ACC UCA GUG
 Cadeia polipeptídica: **MET – GLN – LEU – TRE – SER – FIM**
 - b. DNA: ATG CAG GTG ACC **TCA** GTG
 TAC GTC CAC TGG **ACT** CAC
 RNA: AUG CAG CUG ACC **UGA** GUG
 Cadeia polipeptídica: **MET – GLN – VAL – TRE – FIM**
 - c. DNA: ATG CAG GTG **AAC** CTC AGT G
 TAC GTCCAC **ATG** GAG TCA C
 RNA: AUG CAG GUG **AAC** CUG AGU G
 Cadeia polipeptídica: **MET – GLN – VAL – ASN – LEU – SER**
 - d. DNA: ATG TCA GTG
 TAC AGT CAC
 RNA: AUG UCA GUG
 Cadeia polipeptídica: **MET – SER – VAL**
 - e. DNA: ATG **(CAG CAG CAG)**₂₀ GTG ACC TCA GTG
 TAC **GTC GTC GTC** CAC TGG AGT CAC
 RNA: AUG **(CAG CAG CAG)**₂₀ GUG ACC UCG
 GUG ACU GUG
 Cadeia polipeptídica: **MET – (GLN – GLN – GLN)**₂₀ – VAL – TRE – SER
2. Informe se as mutações por substituição abaixo indicadas são do tipo transversão ou transição:
 ATC → AGC =
 ATG → TTG =
 CAT → GAT =
 AAA → GAT =
 TAG → CAG =
 GTA → ACA =
3. Marque com C as afirmativas corretas e com F as falsas:
 - a. () Os análogos de bases e os compostos com ação direta são substâncias cuja estrutura química é tão semelhante à das bases nitrogenadas que podem ser incorporados ao DNA.
 - b. () Os agentes alquilantes ligam-se ao DNA, inserindo-se entre bases adjacentes.
 - c. () O ácido nitroso não é incorporado ao DNA, mas modifica diretamente a estrutura da adenina e da citosina.
 - d. () Os corantes de acridina podem ligar-se ao DNA, inserindo-se entre bases adjacentes, o que causa distorção da hélice de DNA e mudanças na fase de leitura do código genético.
4. De acordo com os diferentes sistemas de reparo, qual é o papel da luz visível no reparo das mutações induzidas por radiação ultravioleta?
5. Por que os raios X são mutagênicos mais potentes do que a radiação ultravioleta?
6. Indique as diferenças entre o sistema de reparo por excisão de nucleotídeo e o reparo por recombinação homóloga.



Referências

1. Lewis R. Human genetics: concepts and applications. 4th ed. Boston: McGraw-Hill; 2001.
2. Hoffee P. Genética médica molecular. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
3. Lewin B. Genes IX. 9. ed. Porto Alegre: Artmed; 2009.
4. Passarge E. Genética: texto e atlas. 3. ed. Porto Alegre: Artmed; 2011.
5. Brewer GJ, Sing CF. Genetics. Reading: Addison-Wesley; 1983.
6. Mueller RF, Young D. Emery's elements of medical genetics. 10th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1998.
7. Klug WS, Cummings MR, Spencer CA, Palladino MA. Conceitos de genética. 9. ed. Porto Alegre: Artmed; 2010.
8. Vogel F, Motulski AG. Human genetics: problems and approaches. 3rd ed. Berlin: Springer; 1997.
9. Jorde LB, Carey JC, Bamshad MJ, White RL. Genética médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.



Leituras recomendadas

Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson e Thompson: genética médica. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

Robinson WM, Borges-Osório MR. Genética para odontologia. Porto Alegre: Artmed; 2006.

Turnpenny P, Ellard S. Emery genética médica. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2009.