

CAPÍTULO 1

ONCOLOGIA DE PRECISÃO E DEFEITOS NO REPARO DE DNA

Edaise M. da Silva

Departamento de Patologia do Memorial Sloan Kettering Cancer Center, Nova Iorque, Estados Unidos

Thais Basili

Departamento de Patologia do Memorial Sloan Kettering Cancer Center, Nova Iorque, Estados Unidos

Jorge S. Reis-Filho

Departamento de Patologia do Memorial Sloan Kettering Cancer Center, Nova Iorque, Estados Unidos

Introdução

Síntese de DNA e possíveis danos

Os processos de síntese e replicação do DNA são fundamentais tanto para o material genético nuclear quanto para o mitocondrial nos diferentes tipos celulares. Durante a divisão celular, com o objetivo de manter a estabilidade e integridade do genoma, a informação genética é relativamente fielmente duplicada e distribuída de maneira semiconservativa entre as células filhas. As duas moléculas de DNA resultantes deste processo replicativo semiconservativo são constituídas por uma fita molde pertencente à molécula original e uma fita nova recém sintetizada. Esse processo molecular deve ocorrer de maneira coordenada com outros processos no núcleo com o objetivo de evitar defeitos na replicação do DNA^{1,2}, e pode ser dividido em:

Iniciação – Nesta etapa, regiões conhecidas como origem de replicação servem como sítios de ligação para os fatores iniciais da duplicação e recrutamento da maquinaria de síntese do DNA. Após a formação de “bolhas” de replicação, enzimas helicases atuam na separação das duas fitas de DNA, formando uma forquilha de replicação em formato de Y, em que proteínas ligantes ao DNA de cadeia simples mantêm a forquilha aberta para que a formação da fita complementar possa ser iniciada^{2,3};

Elongamento – Uma vez que a forquilha de replicação é formada, enzimas DNA polimerase caminham ao longo das fitas de DNA, conhecidas como fita molde. Durante esse processo, nucleotídeos presentes livremente no núcleo são incorporados de maneira complementar à fita molde. Ambas as fitas do DNA são sintetizadas juntas na forquilha de replicação, com orientação antiparalela. Essa nova cadeia é formada inicialmente por uma porção de RNA, denominada de oligonucleotídeo iniciador^{2,3};

Término – Ao final desse processo, quando chegam ao final da forquilha de replicação, enzimas DNA ligase são responsáveis por ligar os fragmentos gerados, formando uma fita única de DNA. A partir desse momento, encontram-se duas moléculas de DNA, exatamente iguais em relação à sequência de nucleotídeos, sendo que essas moléculas são constituídas por uma fita antiga, pertencente à molécula original, e uma fita recém-sintetizada^{2,3}.

As células são continuamente expostas a uma série de fatores que podem abalar a integridade da informação genética. A molécula de DNA é intrinsecamente reativa e altamente suscetível a modificações químicas por agentes endógenos e exógenos. Em sua maioria, os fatores endógenos são resultado da natureza

quimicamente ativa da molécula de DNA, causando danos espontâneos, como erros de replicação, alterações químicas espontâneas e reações com subprodutos da atividade metabólica, como espécies reativas de oxigênio, hidrólise, desaminação, alquilação e oxidação. Já os agentes exógenos podem ser de natureza física, como as radiações ultravioleta e ionizante; ambiental, como frio ou calor extremos, hipóxia e estresse oxidativo; e química e biológica, abrangendo toxinas, agentes químicos incluindo quimioterápicos e infecções por vírus^{4,5}.

Através de diferentes mecanismos, os fatores endógenos ou exógenos podem causar a substituição, alteração ou danificação das bases do DNA, modificações químicas, erros de pareamento, ligações cruzadas e danos de quebra. De maneira geral, os danos de quebra sofridos pelo DNA podem ser classificados de acordo com a ocorrência em uma única fita, ou fita simples, ou em ambas as fitas do DNA, ou dupla-fita. Os danos de quebra em fita simples ocorrem com maior frequência, enquanto os danos em dupla-fita resultam em um potencial maior de comprometimento da instabilidade genômica⁵.

Para garantir a preservação da integridade genômica, existe uma complexa estrutura de mecanismos celulares responsáveis por detectar, evitar e corrigir os danos ao material genético. Esses mecanismos envolvem ativação de pontos de checagem ao longo do ciclo celular para que seja possível a detecção, a prevenção, a remoção e a restauração do DNA, modificações no perfil transcricional que possam ser benéficas para a célula, processos de tolerância ao dano no DNA e apoptose ou morte celular programada para eliminação de células gravemente danificadas ou desreguladas, caso a correção não seja possível^{5,6}.

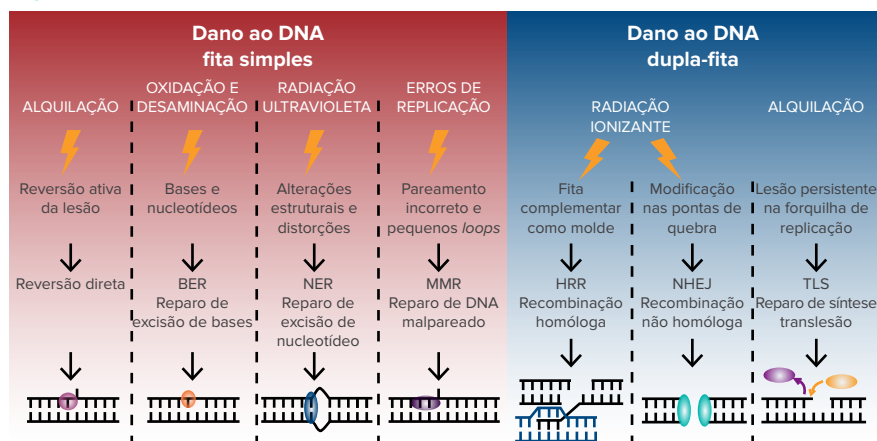
Resposta ao dano no DNA

Os mecanismos de reparo ao dano de DNA detectam alterações no DNA e estresse replicativo através de uma rede complexa de ferramentas na manutenção da integridade genômica e na preservação das funções fundamentais das células. Por meio de diferentes cascatas de sinalização, os mecanismos de reparo de DNA culminam na regulação e na parada do ciclo celular e no recrutamento de enzimas de reparo apropriadas a fim de proteger o genoma da célula. Caso o DNA tenha sido reparado de maneira bem-sucedida, a replicação é reiniciada e as células retomam a progressão do ciclo celular. Caso contrário, a resposta ao dano do DNA (em Inglês, *DNA damage response* ou DDR) sinaliza para que a célula entre em processo de senescência ou apoptose^{7,8}.

O reparo de DNA ocorre em quatro etapas básicas: detecção do defeito no DNA, processamento de extremidades danificadas, reparo do dano e, por fim, ligação. Nos casos de danos em fita simples, o processo de detecção é iniciado pela enzima PARP1, seguida pelo complexo XRCC1, responsável por estabilizar

o complexo enzimático que atuará nas etapas consecutivas. Já quando o defeito é em dupla-fita, o complexo MRN é responsável pela detecção do erro e recrutamento das proteínas ATM e ATR, que têm como funções a sinalização e a ativação do mecanismo de ponto de checagem, que interrompe o ciclo celular para correção do dano. Existem diversos mecanismos para detectar e corrigir os diferentes tipos de danos no DNA que podem ocorrer em fita simples ou dupla-fita^{5,7}. De maneira geral, esses mecanismos podem ser divididos em:

Figura 1. Danos ao DNA



Fatores endógenos e exógenos podem causar danos ao DNA em fita simples ou dupla-fita. Esses danos podem impactar o DNA de diferentes formas. Para cada tipo de lesão, existe um mecanismo específico de reparo do dano ao DNA. Figura adaptada de Sharma, Lewis⁴.

• Reparos em fita simples

Reversão direta

Corrige lesões simples causadas majoritariamente por agentes alquilantes através da reversão ativa da lesão, sem remoção da base danificada através da ação de enzimas de reversão AGT, MGMT e AlkB^{5,9}.

Reparo de excisão de bases (*base excision repair* – BER)

Quando uma ou poucas bases do DNA são quimicamente alteradas, como, por exemplo, por oxidação ou desaminação, mas não causam alteração significativa na estrutura do DNA, as enzimas APE1 ou DNA glicosilases, como NEIL1, NEIL2, NEIL3, OGG1 e NTH1, são responsáveis pelo reconhecimento e pela remoção das bases comprometidas, enquanto a correção é executada por um complexo formado por XRCC1 e DNA polimerases e ligases, como POLB, LIG1 e LIG3, ou por componentes dependentes do recrutamento por PARP1^{7,10}.

Reparo de excisão de nucleotídeo (*nucleotide excision repair* – NER)

O reparo do tipo NER é o único mecanismo capaz de reconhecer e corrigir lesões causadas por radiações UV. Nesse tipo de lesão, um ou poucos nucleotídeos são danificados de forma a causar alterações estruturais e distorções no DNA. As proteínas sensoras XPC, DDB1 e DDB2 ou TCR detectam o erro e ativam esse mecanismo de reparo. Entre as mais de 30 proteínas envolvidas nesse processo, estão XPA, XPG, CSA, CSB, HERC2^{11,12}.

Reparo de pareamento errôneo (*mismatch repair* – MMR)

Nesse mecanismo, o reconhecimento da lesão é feito através de complexos compostos por MLH1, MSH2, MSH3, MSH6, PMS2, PCNA e EXO1 combinados em heterodímeros. Esses heterodímeros interagem entre si para regular o reconhecimento, clivagem e correção do pareamento incorretos de bases, inserções e deleções e pequenos *loops* frequentemente encontrados em sequências repetitivas de DNA, comumente resultado de erros nos processos de replicação e recombinação^{7,13}.

• Reparos em dupla-fita

Recombinação homóloga (*homologous recombination DNA repair* – HRR)

O reconhecimento da quebra envolve as proteínas ATM e ATR, seguidas por CHK2 e BRCA1, que sinalizam e recrutam os demais componentes, incluindo BRAC2, RAD50, RAD51, BARD1, BRIP1, MRE11A e PALB2. Esse método se baseia na cromátide complementar como modelo à disposição para estabelecer um reparo de alta fidelidade. Devido a isso, é considerado um dos mecanismos menos propensos a erro^{14,15}.

Veja esse conteúdo na íntegra
acessando a OC Academia:
<http://ocacademia.com>

