Pesquisadores descobrem mecanismo envolvido na replicação e reparo de DNA que pode auxiliar médicos no tratamento e combate a diferentes tipos de tumores

Título do artigo: *Unrepaired base excision repair intermediates in template DNA strands trigger replication fork collapse and PARP inhibitor sensitivity*

Autores: Almudena Serrano-Benitez, Sophie E Wells, Lylah Drummond-Clarke, Lilian C Russo, John Christopher Thomas, Giovanna A Leal, Mark Farrow, James Michael Edgerton, Shankar Balasubramanian, Ming Yang, Christian Frezza, Amit Gautam, Jan Brazina, Kamila Burdova, Nicolas C Hoch, Stephen P Jackson and Keith W Caldecott.

Revista: *The EMBO Journal*

Data da publicação: 26/07/2023

DOI: <https://doi.org/10.15252/emboj.2022113190>

E-mail(s) para contato: nicolas@iq.usp.br

O DNA é o material genético que guarda a informação da vida. Como uma “receita de bolo”, ele contém as instruções para que as células se multipliquem e produzam os componentes necessários para a sua manutenção — e para o bom funcionamento dos organismos como um todo. Por se tratar de uma molécula química, o DNA pode interagir e reagir com diferentes compostos ao longo da vida de um indivíduo — sejam eles internos ou externos, como a radiação, a luz ultravioleta, componentes do cigarro etc. Esses agentes danificam o DNA e podem resultar em mudanças na sequência de informação armazenada ali.

Dada a importância do DNA, as células fazem o possível para manter a sua qualidade e integridade, através de diferentes mecanismos de reparo. Assim, sempre que ocorrem danos ao material genético, a célula tenta consertá-los de maneira fiel. Se os danos forem excessivos, ela morre, para evitar que essa informação incorreta seja transmitida às células-filhas em um processo chamado de replicação — ou seja, a multiplicação do DNA para formação de novas células. Quando o reparo fiel ou a morte não ocorrem, há o desenvolvimento de doenças como o câncer.

Com o objetivo de estudar mais a fundo os processos de replicação e reparo de DNA, pesquisadores do IQUSP e de duas universidades da Inglaterra propuseram um experimento capaz de comprovar, pela primeira vez, uma teoria já há tempos estabelecida entre os estudiosos da Bioquímica Molecular. A descoberta pode, ainda, ser utilizada no futuro para pesquisas clínicas com novos quimioterápicos para o tratamento de diferentes tipos de câncer e outras doenças.

Segundo o professor **Nicolas Carlos Hoch**, sempre que uma célula vai se dividir para gerar uma nova célula, ela precisa duplicar todo o seu DNA. Nesse processo, a maquinaria de replicação abre a dupla-fita de DNA e começa a copiar, separadamente, cada uma das fitas. Isto resulta em quatro fitas ao final — ou duas duplas-fitas, uma para cada célula-filha. Ao local exato da molécula de DNA onde a cópia está acontecendo, dá-se o nome de “forquilha de replicação”.

Imagine as fitas de DNA como duas folhas de papel, nas quais está escrita uma receita de bolo em duas vias. Em uma página, a receita está redigida normalmente; na outra, há uma cópia espelhada do texto. As duas páginas são necessárias, porque se você perder ou manchar uma delas, consegue ainda obter a receita correta usando a outra página. Se você fosse copiar a receita à mão para alguém, você escreveria uma folha de cada vez, separadamente. Até que o processo esteja concluído, haverá alguns trechos já copiados da receita e outros ainda por copiar. É exatamente assim que funciona a replicação de DNA — e a ponta da sua caneta representa o local da forquilha de replicação.

Já era conhecido que os danos ao DNA poderiam ocorrer antes e/ou após a forquilha de replicação — afinal, em uma situação natural, as modificações moleculares são aleatórias. Porém, nenhum pesquisador havia conseguido separar os dois processos, a fim de compreender qual deles é mais comprometedor para a viabilidade celular — ou seja, qual local de dano interrompe a replicação ou leva a célula à morte.

Neste contexto, Nicolas e seus colaboradores propuseram dois experimentos: no primeiro, foi adicionado a uma cultura de células em replicação um composto chamado de clorodeoxiuridina (CldU) — um análogo de nucleotídeo modificado, que é incorporado somente à fita recém-sintetizada de DNA. No exemplo anterior, é como se você usasse uma caneta de cor diferente para escrever as letrinhas da nova receita no papel. O CldU é reconhecido pela célula como um dano molecular, o que ativa os mecanismos de reparo de DNA. Para identificar quais os efeitos desse dano imediatamente após a replicação, os pesquisadores trataram as células simultaneamente com um outro composto, chamado inibidor de PARP — cuja função é impedir a via de reparo de DNA que corrige o dano específico provocado pelo CldU. Nesta situação, observou-se que as células não morreram e conseguiram se multiplicar sem grandes problemas.

No segundo experimento, os pesquisadores utilizaram como base a mesma condição anterior — em que as células passaram por uma fase de replicação na presença de CldU e, portanto, o dano já está inserido no DNA. Quando as células começaram uma nova rodada de replicação, foi adicionado à cultura o inibidor de PARP, a fim de impedir o reparo do DNA danificado nas fitas-molde — ou seja, o material genético usado como base para a cópia, à frente da forquilha de replicação. Na analogia anterior, seria como utilizar a receita feita com cor diferente para produzir um novo transcrito. Ao final do ensaio, observou-se que a presença dos danos não reparados provocou o colapso da forquilha, a interrupção da replicação e até mesmo a morte celular.

Com os resultados dos experimentos, pode-se chegar a duas conclusões principais: primeiro, de que os danos ao DNA molde, à frente da forquilha de replicação, são os que realmente comprometem a integridade e a viabilidade celular. Segundo, de que se o inibidor de PARP — um quimioterápico já adotado na clínica para tratar alguns tipos de câncer — for utilizado em combinação com o CldU, ele pode ter o seu efeito potencializado contra os tumores. Mais pesquisas, no entanto, são necessárias para comprovar esta hipótese.

Informações adicionais sobre as descobertas podem ser lidas no artigo "[Unrepaired base excision repair intermediates in template DNA strands trigger replication fork collapse and PARP inhibitor sensitivity](#)", publicado na revista científica *The EMBO Journal*.

Sobre o Prof. Dr. [Nícolás Carlos Hoch](#): Nícolás é Professor Doutor no Departamento de Bioquímica do IQUSP desde 2018 e coordenador do Laboratório de Estabilidade Genômica. Seu grupo de pesquisa estuda vias de sinalização / reparo de danos ao DNA e tem interesse em doenças genéticas humanas, causadas por mutações nestes processos.

Por Bruna Larotonda | Comunicação IQUSP