Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

Guanina em perigo: por que ela é a base do DNA mais vulnerável aos radicais livres?

Lázaro Batista de Azevedo Medeiros[1], Ana Helena Sales[2]

[1]Nutricionista pela Faculdade de Ciências da Saúde do Trairi da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e Mestre em Bioquímica pelo Programa de Pós-Graduação em Bioquímica (UFRN). Instituto Assaly, São Paulo - SP, Brasil

[2]Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Doutorado em Bioquímica e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Professora Adjunta na Fordham University (Department of Natural Sciences), New York City – NY, USA

Autor para correspondência - asalesdeoliveira@fordham.edu

Palavras-chave: lesões de DNA, oxidação da guanina, radicais livres, estresse oxidativo, 8-oxoG

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

Os radicais livres são moléculas ou átomos instáveis que contém um ou mais elétrons desemparelhados que os tornam reativos. Alguns apresentam maior potencial de dano e podem atacar biomoléculas como lipídeos, proteínas e DNA. Todas as quatro bases do DNA são suscetíveis ao ataque dos radicais livres, mas a Guanina é a mais vulnerável. Essa característica ajuda a explicar o grande número de lesões que podem ser geradas nessa base. A lesão mais frequentemente formada na Guanina é a **8-oxoG**, uma modificação oxidativa importante nos estudos de mutagênese. Apesar dessa alteração local, estudos mostram que a 8-oxoG não provoca distorções significativas na estrutura geral da dupla hélice do DNA e ainda pode formar um pareamento estável com a Citosina segundo o modelo de Watson-Crick. A 8-oxoG é considerada uma lesão pré-mutagênica, pois adquire a capacidade de parear com a Adenina durante a replicação. Esse pareamento incorreto pode resultar em uma mutação gênica, caso a lesão não seja removida antes da próxima rodada de replicação. Este artigo discute a vulnerabilidade da Guanina.

8-oxoG é a sigla usada para a lesão 8-oxo-7,8-dihidroguanina, uma forma oxidada da base Guanina.

O que são os radicais livres e como surgem?

Os radicais livres são átomos ou moléculas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados em seus orbitais atômicos e podem existir de forma independente, podendo se formar por **cisões homolíticas**. A presença desses elétrons desemparelhados pode conferir **reatividade** a essas espécies, embora essa característica varie bastante entre os diferentes tipos de radicais livres.

Em alguns casos, essa reatividade permite que o radical interaja com moléculas próximas para capturar um elétron, o que define sua capacidade oxidante. A **capacidade oxidativa** está associada aos danos biológicos em células e organismos, mas nem todos os radicais livres possuem o mesmo potencial de causar tais efeitos.

Um exemplo clássico da geração de radicais altamente reativos ocorre na reação de Fenton, um processo químico em que o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), na presença de íons ferrosos (Fe^{2+}), dá origem ao radical hidroxila (•OH). Essa reação pode ser representada da seguinte forma:

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \bullet OH$$

O radical hidroxila formado é considerado uma das espécies mais reativas no meio biológico, sendo capaz de atacar lipídios, proteínas, DNA e outras estruturas celulares de maneira praticamente inespecífica. Por isso, a reação de Fenton é vista como um ponto crítico no estresse oxidativo, especialmente em ambientes ricos em ferro livre ou mal regulados em termos de metabolismo do ferro, uma característica frequentemente observada em processos inflamatórios, envelhecimento e doenças crônicas como o câncer e distúrbios neurodegenerativos.

Assim, a geração de radicais livres por vias como a reação de Fenton exemplifica como a reatividade dessas espécies pode variar drasticamente e como certos contextos bioquímicos amplificam seu potencial lesivo.

Os radicais livres são gerados por diversos processos biológicos, tanto endógenos quanto exógenos, e desempenham papéis importantes em condições fisiológicas normais. No ambiente intracelular, esses radicais são continuamente formados como subprodutos do

Cisões homolíticas são quebras de ligações covalentes nas quais cada átomo envolvido retém um dos elétrons que antes eram compartilhados.

Reatividade corresponde à tendência dos elétrons livres de se agruparem em pares, seja em orbitais atômicos ou em ligações covalentes.

Capacidade oxidante é a capacidade de uma molécula ou espécie química de remover elétrons de outras moléculas, promovendo reações de oxidação.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

metabolismo mitocondrial, como é o caso da **respiração celular**, além de estarem envolvidos em processos enzimáticos mediados por oxidases, que os produzem como subprodutos. Células endoteliais e leucócitos, por exemplo, geram radicais livres como parte da resposta inflamatória contra patógenos e algumas espécies participam ativamente da sinalização celular e de **reações biossintéticas** específicas. Além dessas fontes fisiológicas, os radicais livres também podem surgir por reações de óxido-redução, como a reação de Fenton, na qual íons metálicos como o ferro participam da geração de espécies altamente reativas. A exposição a fatores ambientais, como luz ultravioleta (UV), radiação ionizante, poluição atmosférica e tabaco, também é reconhecida como um importante gatilho para a formação de radicais livres. A radiação ionizante, por exemplo, pode quebrar moléculas de água intracelulares, gerando radicais hidroxila altamente reativos (Figura 1).

Respiração celular é o processo no qual moléculas orgânicas são oxidadas para gerar ATP, a principal fonte de energia da célula.

Reações biossintéticas são processos em múltiplas etapas que ocorrem nos organismos vivos para produzir compostos químicos complexos.

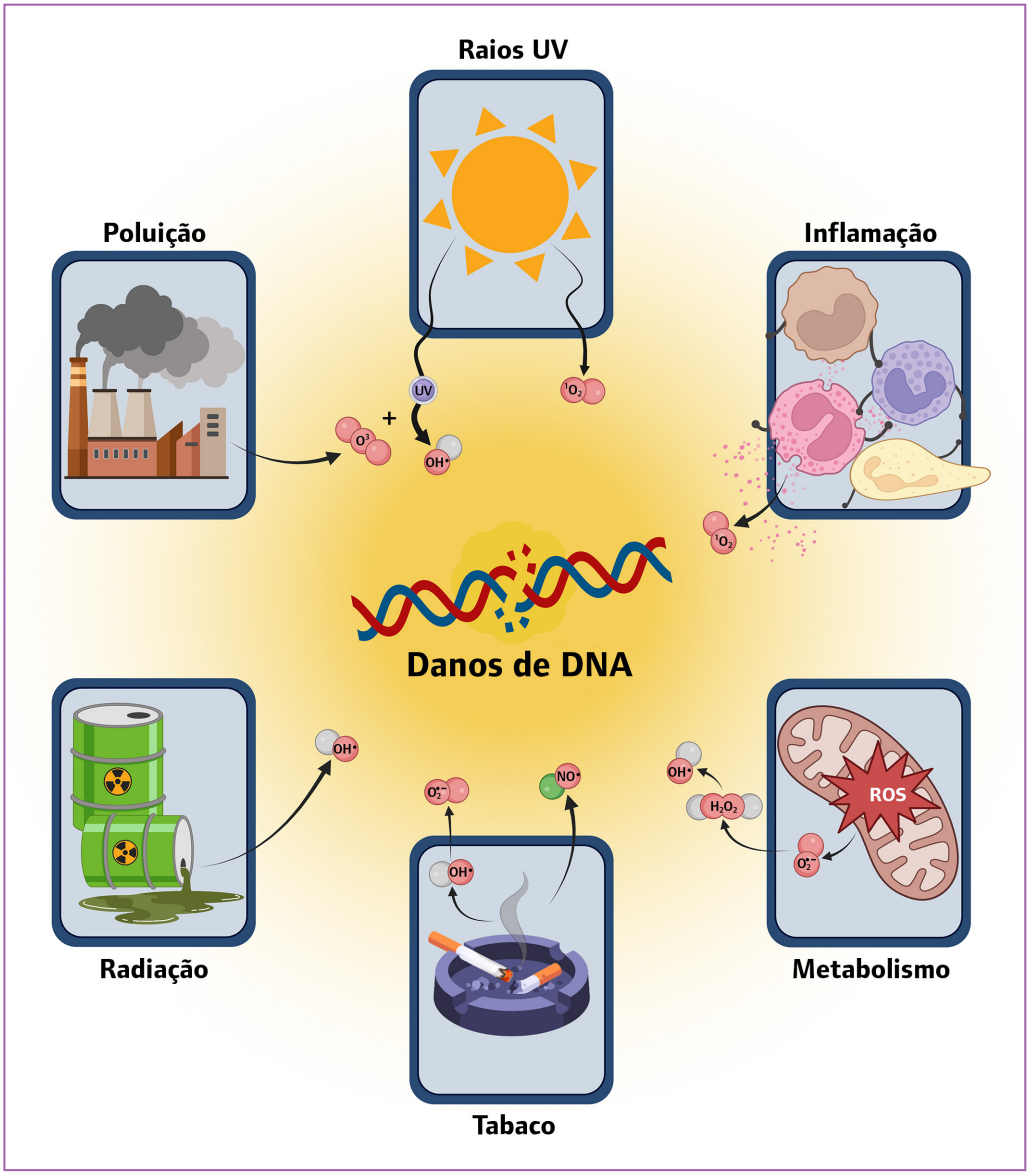

Figura 1.
O DNA celular pode ser danificado por radicais livres gerados a partir de diversas fontes. Essas espécies reativas podem se originar endogenamente, por meio de processos como o metabolismo mitocondrial, a resposta inflamatória e a atividade do sistema imune. Fontes exógenas, como radiação ionizante, luz UV, poluição atmosférica e fumaça do cigarro, também contribuem significativamente para a formação de radicais livres no organismo.

Diversos estudos evidenciam que os radicais livres participam de importantes processos fisiológicos, mas, quando em excesso, estão diretamente envolvidos na oxidação de biomoléculas como proteínas, lipídios e DNA. Os danos ao DNA associados aos radicais livres gerados endogenamente durante o metabolismo celular normal são mais frequentes do que os danos causados por fatores ambientais. No entanto, os papéis benéficos ou prejudiciais dos radicais livres dependem do contexto celular.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

Os radicais livres mais estudados estão incluídos entre as chamadas espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS). Contudo, é importante destacar que nem todas as ROS e RNS são, de fato, radicais livres. Algumas dessas moléculas, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o peroxinitrito ($ONOO^-$), são altamente reativas, mas não possuem elétrons desemparelhados, e por isso não são classificados como radicais. Já outras moléculas dentro desses grupos, como o radical hidroxila (•OH) e o óxido nítrico (•NO), são radicais livres. Assim, os termos ROS e RNS referem-se a um conjunto de moléculas que pode incluir tanto radicais quanto compostos não-radicais, todos com potencial para modificar biomoléculas. Além dessas, também existem outras espécies reativas contendo metais como ferro e cobre, ou enxofre, que participam de processos celulares importantes, mas que também podem estar associadas ao estresse oxidativo (Figura 2).

ROS significa espécies reativas de oxigênio (abreviação do inglês ***R**eactive **O**xygen **S**pecies*).

RNS significa espécies reativas de nitrogênio (abreviação do inglês ***R**eactive **N**itrogen **S**pecies*).

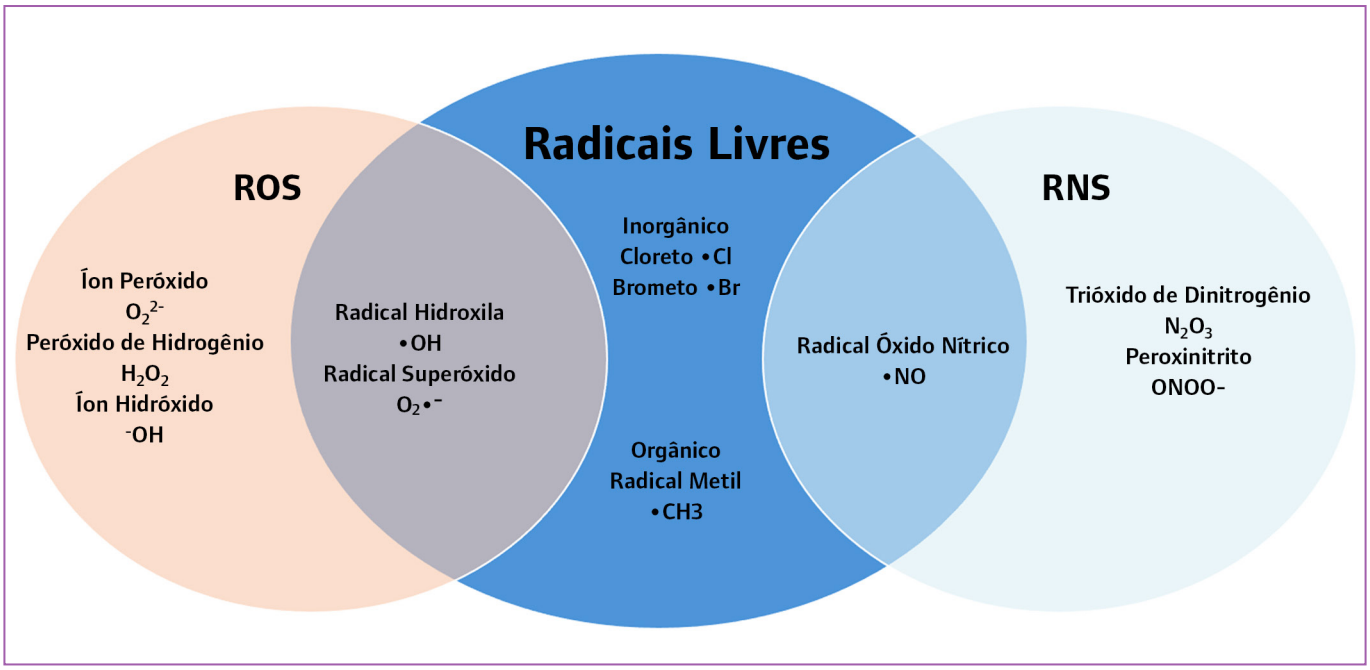

Figura 2.
Diagrama de Venn ilustrando a relação entre radicais livres, espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS). Nem todas as ROS e RNS são radicais livres, alguns exemplos, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o peroxinitrito ($ONOO^-$), são moléculas reativas, mas não apresentam elétrons desemparelhados. Por outro lado, moléculas como o radical hidroxila (•OH) e o óxido nítrico (•NO) estão presentes nas interseções, sendo classificadas tanto como radicais livres quanto como ROS ou RNS. A figura destaca a sobreposição parcial entre esses grupos, reforçando que, embora compartilhem propriedades oxidantes, seus conceitos não são equivalentes.

O estresse oxidativo é um fenômeno causado pelo desequilíbrio entre a produção dos radicais livres nas células e a capacidade do sistema antioxidante do organismo em inativar essas espécies reativas (Figura 3). Assim, o estresse oxidativo é o resultado tanto de um aumento na concentração de radicais livres quanto de uma redução na atividade do sistema antioxidante protetor. As células possuem um sistema de defesa composto por antioxidantes para se protegerem dos danos induzidos por essas espécies reativas, baseado principalmente em enzimas como: Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutationa Peroxidase (GPx) e Peroxirredoxinas (Prxs). Apesar do fato das células possuírem uma capacidade intrínseca de eliminar os radicais livres, em algumas situações não é suficiente para conter a quantidade produzida, principalmente pelas mitocôndrias. Além disso, vários antioxidantes não enzimáticos, como vitamina C, vitamina E, vitamina B6, flavonoides e polifenóis atuam na defesa e combate ao estresse oxidativo.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

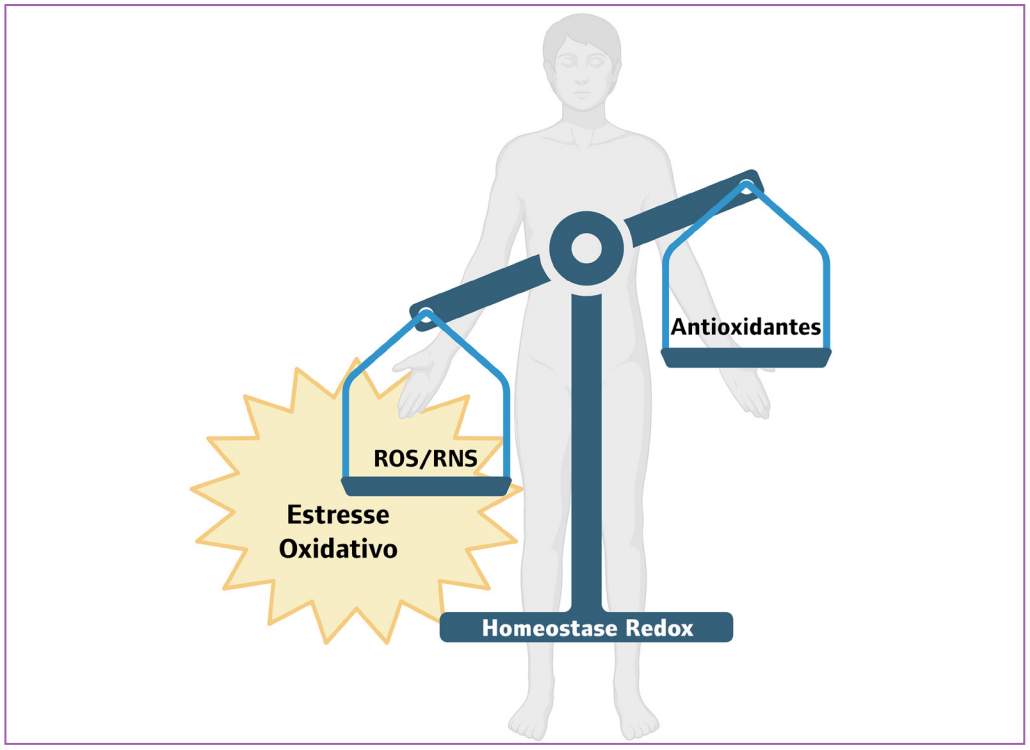

Figura 3.
O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas (ROS/RNS) e a capacidade do organismo de neutralizá-las por meio de seus sistemas antioxidantes. Quando a geração de radicais supera o potencial antioxidante, a balança pende para o lado das espécies reativas, levando a danos celulares.

Os danos às biomoléculas induzidos por radicais livres durante o estresse oxidativo são fatores-chave na patogênese e fisiopatologia de diversas doenças crônicas, incluindo condições neurodegenerativas (como Parkinson, Alzheimer, doença de Huntington e esclerose lateral amiotrófica), enfisema, doenças cardiovasculares e inflamatórias, catarata e câncer. O estresse oxidativo também influencia negativamente os mecanismos celulares do envelhecimento, comprometendo funções fisiológicas, promovendo o desenvolvimento de doenças e reduzindo a expectativa de vida.

Oxidação da Guanina e seus produtos

Alguns radicais livres possuem **potencial redox** suficientemente alto para reagir com diversas biomoléculas, como as proteínas, lipídios e até a molécula de DNA. Estudos demonstraram que todas as bases do DNA são susceptíveis a esse tipo de ataque, mas a Guanina é a mais frequentemente oxidada devido ao seu baixo potencial redox (Tabela 1). Por essa razão, a Guanina é a base do DNA mais vulnerável a sofrer oxidação.

Base	Potencial redox
Timina	1.7 V
Citosina	1.6 V
Adenina	1.4 V
Guanina	1.3 V
8-oxoG	0.6 V

Tabela 1.
Potencial redox das bases de DNA.

A vulnerabilidade da Guanina ajuda a explicar o grande número de lesões que podem ser originadas a partir da oxidação da Guanina. A lesão formada com maior frequência é denominada de 8-oxoguanina (8-oxoG), a qual difere da Guanina normal pela presença de um hidrogênio em N7 (nitrogênio numerado com o número 7 no anel dessa base nitrogenada) e a substituição do hidrogênio por um oxigênio em C8 (carbono numerado como 8, Figura 4-A). A 8-oxoG é uma lesão que pode ser formada diretamente na molécula de DNA, mas também pode ser originada em nucleotídeos livres, os quais podem ser incorporados no genoma pelas polimerases durante a síntese de DNA. A presença da 8-oxoG no DNA é frequentemente usada como um marcador celular para indicar a extensão do estresse oxidativo, sendo estimado que cerca de 100 mil lesões do tipo 8-oxoG são forma-

Potencial redox é uma medida da tendência de uma espécie química em ganhar ou perder elétrons, determinando seu comportamento como agente redutor ou oxidante. O valor do potencial redox é expresso em volts (V).

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

das diariamente no genoma de cada célula, mesmo em condições fisiológicas normais.

A 8-oxoG é uma modificação oxidativa importante nos estudos de mutagênese, pois, em condições normais, assim como a Guanina, é capaz de parear com a Citosina, formando um par de bases que segue o modelo proposto por Watson-Crick (Figura 4-B). Dessa forma, a 8-oxoG é considerada uma lesão de baixa citotoxicidade, uma vez que não causa bloqueios significativos durante o processo de replicação do DNA, nem constitui barreira para a transcrição, já que sua estrutura permite um *bypass* eficiente pelas polimerases de DNA e de RNA.

A 8-oxoG é classificada como um produto pré-mutagênico devido à sua capacidade de rotacionar na fita de DNA, aumentando a chance de pareamento incorreto com a Adenina durante a replicação. A formação do par 8-oxoG:Adenina é estável e segue o Modelo de Hoogsteen (Figura 4-C). Esse pareamento é frequentemente observado durante a síntese de DNA, já que muitas polimerases tendem a inserir uma Adenina em frente à 8-oxoG. Caso essa lesão não seja removida do genoma pelas enzimas de reparo, uma mutação do tipo transversão poderá ser fixada no DNA após duas rodadas consecutivas de replicação (Figura 4-D).

Bypass é um termo em inglês que se refere à capacidade de algumas polimerases ignorarem uma lesão no DNA e continuarem a síntese da fita.

Modelo de Hoogsteen é uma variação do pareamento de bases do DNA proposto por Watson e Crick, em que uma base nitrogenada realiza uma rotação na fita de DNA para estabelecer pareamento com outras bases.

Transversão é um tipo de mutação por meio da qual uma base púrica (A ou G) é substituída por uma base pirimídica (C ou T) no DNA.

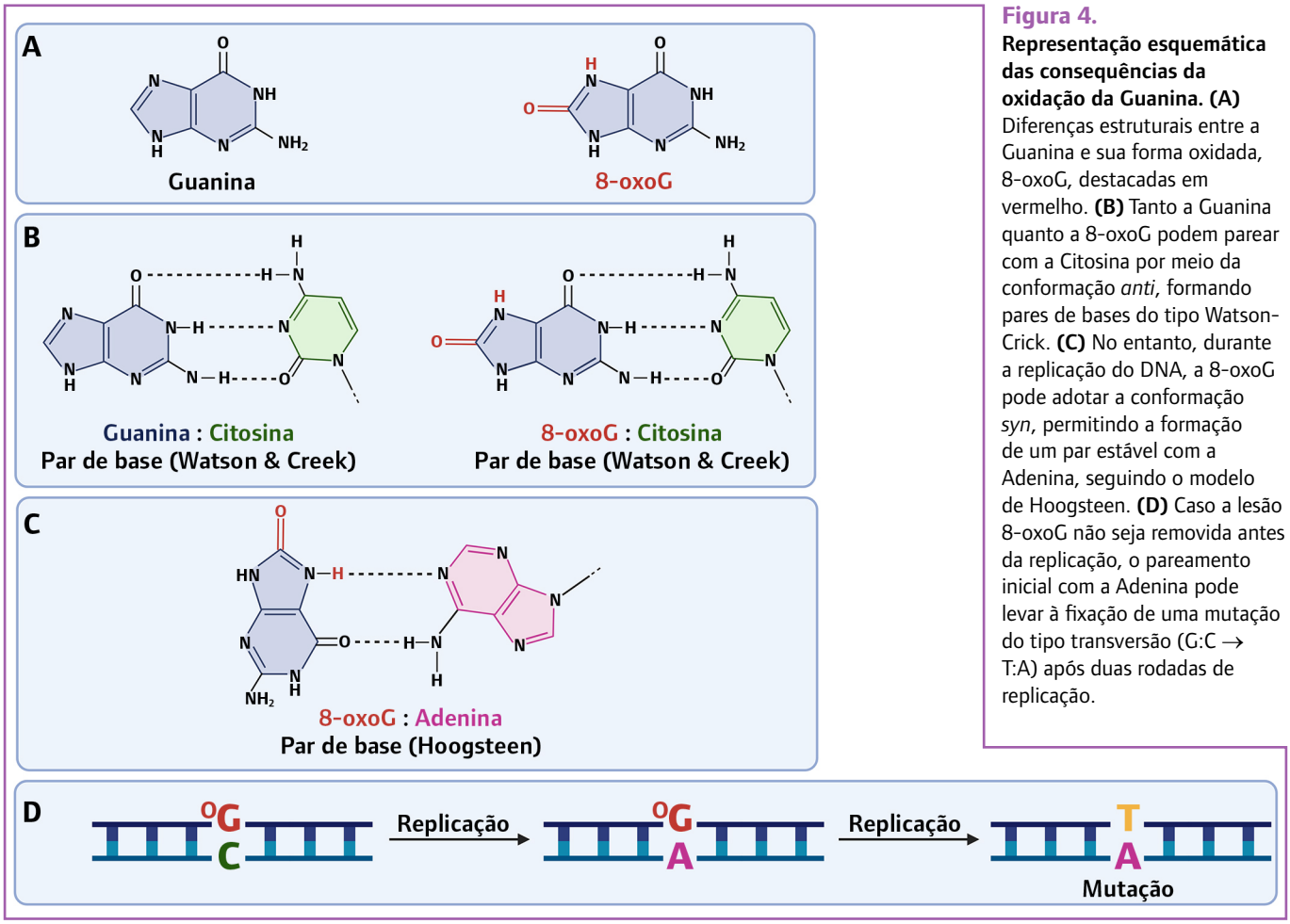

Figura 4.
Representação esquemática das consequências da oxidação da Guanina. (A) Diferenças estruturais entre a Guanina e sua forma oxidada, 8-oxoG, destacadas em vermelho. **(B)** Tanto a Guanina quanto a 8-oxoG podem parear com a Citosina por meio da conformação *anti*, formando pares de bases do tipo Watson-Crick. **(C)** No entanto, durante a replicação do DNA, a 8-oxoG pode adotar a conformação *syn*, permitindo a formação de um par estável com a Adenina, seguindo o modelo de Hoogsteen. **(D)** Caso a lesão 8-oxoG não seja removida antes da replicação, o pareamento inicial com a Adenina pode levar à fixação de uma mutação do tipo transversão (G:C → T:A) após duas rodadas de replicação.

Curiosamente, a 8-oxoG possui uma maior vulnerabilidade ao ataque de radicais livres do que a guanina não lesionada, devido ao seu menor potencial redox, ou seja, a 8-oxoG doa elétrons com mais facilidade, tornando-se um alvo preferencial para novos ataques oxidativos (Tabela 1). A 8-oxoG, ao sofrer uma nova oxidação, pode originar outras lesões com grande potencial mutagênico. Numerosos produtos da oxidação de 8-oxoG já foram identificados e são chamados de produtos "hiper-oxidados" por resultarem de dois eventos oxidativos sequenciais da ação dos radicais livres.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

Consequências da 8-oxoG e dos produtos hiper-oxidados

A lesão 8-oxoG induz predominantemente mutações do tipo **G:C → T:A** no genoma. Este fato foi evidenciado com um experimento de replicação que utilizou um **plasmídeo** contendo uma única lesão do tipo 8-oxoG em uma posição previamente determinada. A análise revelou a presença de uma Timina no local onde antes se encontrava a 8-oxoG e, consequentemente, uma Adenina na fita oposta (Figura 4-D). Além disso, foi constatado que os produtos hiper-oxidados também são mutagênicos e podem originar mutações tanto do tipo G:C > T:A quanto do tipo G:C > G:C. Essas lesões podem interferir na taxa de *bypass*, influenciar o tipo de nucleotídeo inserido na posição oposta à lesão e ativar distintos mecanismos de reparo. Estudos recentes demonstraram que, enquanto a 8-oxoG é removida exclusivamente pela via **BER**, os produtos hiper-oxidados como SP1 e Gh podem ser removidos tanto pela via BER quanto pela via **NER**.

O papel epigenético da guanina oxidada

Tradicionalmente, a oxidação da base guanina que resulta em 8-oxoguanina (8-oxoG) era vista apenas como um tipo de dano ao DNA, que precisava ser reparado para evitar mutações e problemas nas células. No entanto, pesquisas recentes indicam que a 8-oxoG pode ter um papel especial além de ser um dano: ela pode funcionar como um sinal que ajuda a controlar a forma como os genes são ativados ou desativados — ou seja, pode atuar como um marcador epigenético. Isso significa que, além de ser uma lesão, a 8-oxoG pode ajudar a regular a expressão dos genes, influenciando o funcionamento das células.

As células possuem uma enzima chamada **OGG1**, que identifica e inicia o reparo da 8-oxoG. Mas essa enzima também pode ajudar a ativar outros processos que modificam o DNA e influenciam a atividade dos genes, mostrando que a presença da 8-oxoG pode ser um sinal usado pela célula para controlar funções importantes. Apesar do sistema de reparo ser eficiente, a 8-oxoG pode permanecer em algumas regiões do DNA, especialmente em genes que são menos ativos. Já em genes muito ativos, a remoção da 8-oxoG acontece mais rapidamente. Isso sugere que a presença dessa modificação pode estar relacionada com o controle da atividade genética.

Além disso, a 8-oxoG está envolvida em processos celulares importantes, como a diferenciação das células-tronco e o metabolismo, e sua acumulação está ligada a condições como o envelhecimento precoce e o desenvolvimento de tumores. Nas regiões chamadas telômeros — que protegem as extremidades dos cromossomos, a 8-oxoG pode contribuir para o seu encurtamento, um processo relacionado ao envelhecimento celular. Por fim, muitos estudos ainda estão sendo feitos para entender melhor como a 8-oxoG funciona como um sinal epigenético e se essa oxidação da guanina pode ter um "código" que altera de forma específica o comportamento das células. Essa nova visão mostra que a 8-oxoG não é apenas um dano para o DNA, mas uma peça importante na regulação da vida celular.

Para saber mais

MEDEIROS, L. B. DE A.; SALES, A. H. O gene MUTYH e o seu papel na etiologia dos tumores em humanos. *Genética Na Escola*, v. 17, n.1, p. 118–123, 2022. 10.55838/1980-3540.ge.2022.429

KOLBANOVSKIY, M.; AHARONOFF, A.; SALES, A. H.; GEACINTOV, N. E.; SHAFIROVICH, V. Base and Nucleotide Excision Repair Pathways in DNA Plasmids Harboring Oxidatively Generated Guanine Lesions. *Chem Res Toxicol.* v.18, n.34, Ed. 1, p.:154-160, 2021. 10.1021/acs.chemrestox.0c00463

WILLIAM L NEELEY; JOHN M ESSIGMANN Mechanisms of formation, genotoxicity, and mutation of guanine oxidation products. *Chem Res Toxicol.*, v. 19, n.4, p. 491-505, 2006. 10.1021/tx0600043.

HAHM, J. et al. 8-Oxoguanine: from oxidative damage to epigenetic and epitranscriptional modification. *Experimental & Molecular Medicine*, v. 54, n. 10, p. 1626–1642, 2022. DOI: 10.1038/s12276-022-00822-z

G:C → T:A representa uma mutação em que um par de base do tipo **G**uanina:**C**itosina é convertido em **T**imina:**A**denina.

Plasmídeo é uma pequena molécula de DNA circular, presente em bactérias e alguns outros microrganismos, que é fisicamente separada do genoma e pode se replicar de forma independente.

BER é a sigla em inglês para ***B**ase **E**xcision **R**epair* (reparo por excisão de bases).

NER é a sigla em inglês para ***N**ucleotide **E**xcision **R**epair* (reparo por excisão de nucleotídeos).

OGG1 é uma enzima responsável por reconhecer e iniciar o reparo da 8-oxoG, removendo essa base danificada e contribuindo para a manutenção do material genético. A função da OGG1 já foi discutida em uma publicação anterior da Genética na Escola: https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2022.429.