

# O Jogo da Resposta ao Dano no DNA

## Leonardo Carmo de Andrade-Lima

Pós-graduando do Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo

Correspondência - leolima11@gmail.com

**Palavras-chave:** jogo didático, resposta a dano no DNA, mutações, câncer, apoptose

**Dano no DNA** é uma alteração química da estrutura do DNA, como por exemplo, quebras em uma das fitas do DNA (causados por oxidação ou colapso da forquilha de replicação) ou dímeros de pirimidina causados por luz UV (ligação covalente entre bases adjacentes que distorce a dupla-hélice). Uma lesão pode ser reconhecida e reparada. Mas, em determinadas situações, ela pode gerar uma mutação, ou seja, uma alteração na informação genética.

A **Luz ultravioleta** (UV) é subdividida didaticamente em três faixas de acordo com o comprimento de onda: UVA (320-400 nm); UVB (280-320 nm) e UVC (100-280 nm). A camada de ozônio na atmosfera terrestre absorve toda luz UVC e grande parte de luz UVB e, assim, o que atinge a superfície terrestre é UVA e uma parte da luz UVB. A porção UVB induz principalmente dímeros de pirimidina no DNA enquanto a toxicidade de UVA vem de danos por oxidação.

**Tumorigênese** é um processo de múltiplos passos, em que a progressão depende em uma acumulação sequencial de mutações em uma mesma célula. Essas mutações resultam em perda da homeostase tecidual já que as células transformadas adquirem vantagens seletivas pelo aumento da taxa de proliferação, diminuição da indução de morte celular, além da criação de um microambiente propenso ao crescimento.

**Mutação** é a alteração da informação genética através de mudança na sequência de nucleotídeos. Podem ser causadas apenas pela substituição de uma base (Mutação pontual), pela inserção ou deleção de bases ou ainda aberrações cromossômicas como translocações cromossômicas gerando aneuploidias.

O jogo “Resposta ao dano no DNA” é uma proposta de atividade facilitadora do aprendizado que integra conhecimentos de ciclo celular, danos no DNA, mutagênese e câncer. O jogo propõe que o estudante de ensino superior se coloque na posição de uma célula com danos no DNA – gerados por luz ultravioleta do sol – e que reflita sobre as possibilidades existentes para evitar que se transforme em uma célula tumoral.

O DNA é uma molécula instável naturalmente. Diversos agentes químicos e físicos podem interagir com essa molécula e modificar sua estrutura, gerando **danos no DNA** – o que ameaça a estabilidade genômica. A **luz ultravioleta** (UV), por ser parte integrante da radiação solar, é o agente físico capaz de lesionar o DNA a que estamos mais expostos e por esse motivo é o maior fator de risco para câncer de pele. Porém, para que o processo de **tumorigênese** aconteça, é necessário que os danos no DNA sejam convertidos em **mutações**. Para que isso aconteça, a fase do ciclo celular em que a célula se encontra é fundamental. Para fixar uma mutação pontual é necessária a replicação do DNA (fase S). Aberrações cromossômicas ocorrerão caso quebras no DNA sejam religadas em local inadequado e aneuploidias ocorrerão caso as quebras persistam até a

mitose e os cromossomos não sejam separados adequadamente. Devido a essa ameaça, a evolução selecionou vias enzimáticas capazes de reparar de DNA, específicas para cada tipo de lesão.

Porém, a resposta ao dano no DNA vai muito além da maquinaria de reparo. Existe uma sinalização que desencadeia uma resposta instantânea através de modificações pós-traducionais (fosforilação, ubiquitinação, metilação etc.) em proteínas já existentes, alterando sua função ou localização celular. Uma segunda resposta, um pouco mais demorada, envolve modulação da expressão gênica com aumento ou diminuição da transcrição ou estabilidade do RNAm alvos. Essas respostas culminam em paradas no ciclo celular (checkpoint) – evitando catástrofe na replicação ou na mitose – além de mecanismos de to-



lerância ao dano na fase S (**síntese translesão**) e maior eficiência de reparo. Como última estância, uma sinalização de dano mais persistente pode levar à senescência ou apoptose, evitando tumorigênese.

No Curso de Difusão intitulado “Respostas aos danos no DNA – Implicações em envelhecimento e câncer”, oferecido para graduandos da área de saúde (Ciências Biológicas, Biomédicas, Farmácia e Bioquímica, Medicina, Biotecnologia), realizado no Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo foi criada, como parte da disciplina, uma atividade lúdica que busca integrar conhecimentos de ciclo celular, danos no DNA, mutagênese e câncer, às vezes tratados como tópicos não relacionados. A atividade enfatiza a diferença entre dano no DNA e mutação, além de fazer com que o aluno reflita na melhor resposta celular - dependendo de que fase do ciclo celular ela se encontra - frente à possibilidade de acumular mutações e sofrer transformação.

O jogo oferece uma oportunidade inovadora de integrar e discutir conceitos apresentados em aulas teóricas previamente ministradas com a temática de Mutações e Reparo de DNA para alunos de graduação de disciplinas como Biologia Molecular, por exemplo.

## COMPONENTES DO JOGO

- + Projetor multimídia para apresentação (em *PowerPoint*) das Regras do Jogo (quadros 2 e 3) e da Dinâmica do Jogo (quadros 4 a 7). A referida apresentação pode ser obtida [neste link](#).
- + 110 cartões de danos no DNA causado por UV 
- + 94 cartões de Mutação 
- + 46 cartões de Dupla-quebra no DNA 
- + Todos os cartões devem ser previamente impressos a partir do **anexo 1** e recortados para uso em aula.

## PLANEJANDO A ATIVIDADE

A atividade deve ser realizada com um grupo de, no máximo 20 estudantes (ou 20 duplas),

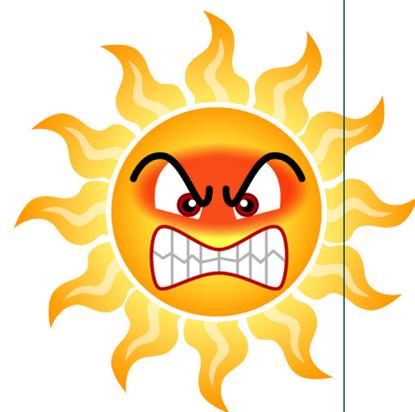
divididos em 3 filas indianas de frente para o projetor. Cada estudante representa uma célula irradiada com luz solar e inicia o jogo em uma das fases da interfase (G1, S ou G2). A proporção das fases entre os estudantes deve ser de 2:2:1, respectivamente (8 em G1; 8 em S e 4 em G2).

O objetivo do jogo é que a célula (estudante) não acumule mutações e não se transforme em um tumor. O jogo contém 110 telas com ações para progressão no ciclo celular (Fig. 1) projetadas em *PowerPoint* e inicia-se com o primeiro aluno da fila G1 escolhendo qualquer ação correspondente à sua fase no ciclo celular. Se o participante progredir no ciclo celular, ele se dirigirá ao final de sua nova fila (no caso, fase S) e esperará a vez de escolher uma nova ação. Então, será a vez do próximo estudante da fila, escolhendo sua ação. Caso, após a ação, ele não consiga passar para a próxima fase do ciclo, irá para o fim da fila e esperará a vez. A sequência de escolha é de 2 participantes na fila G1, seguidos por 2 na fila S e 1 na fila G2, então, a escolha retorna à fila G1.

## REGRAS DO JOGO

1. Cada participante (ou dupla) é uma célula progredindo no ciclo celular.
2. O objetivo do jogo é progredir no ciclo celular e não virar tumor.
3. Transforma-se em tumor quando 5 mutações são acumuladas.
4. Todas as células começam o jogo com 5 lesões causadas por luz UV solar.
5. As lesões causadas por luz UV solar podem ser transformadas em lesões de dupla-quebra no DNA (isso acontece devido à persistência do bloqueio da forquilha de replicação).
6. Em cada rodada, o participante da vez escolhe uma ação para lidar com o problema dos danos no DNA e prosseguir no ciclo. As opções variam entre ativar diferentes vias de reparo de DNA, modular a resposta ao dano no DNA, induzir morte celular por apoptose ou simplesmente prosseguir para a próxima fase do ciclo sem nenhuma resposta celular. Assim, o participante na fase G1

**Síntese Translesão** - Danos causados por luz UV promovem grandes distorções na estrutura do DNA e promovem um bloqueio físico das maquinarias de replicação do DNA. Porém, se a forquilha de replicação persistir bloqueada pelos dímeros de pirimidina, poderá ocorrer o colapso e a conversão em duplas-quebras no DNA. Como forma de evitar esse bloqueio desastroso e continuar a replicação, as células podem recrutar polimerases alternativas – mais propensas a erros, mas com capacidade de replicar um dano no DNA. A consequência, entretanto, é uma maior chance de mutagênese.

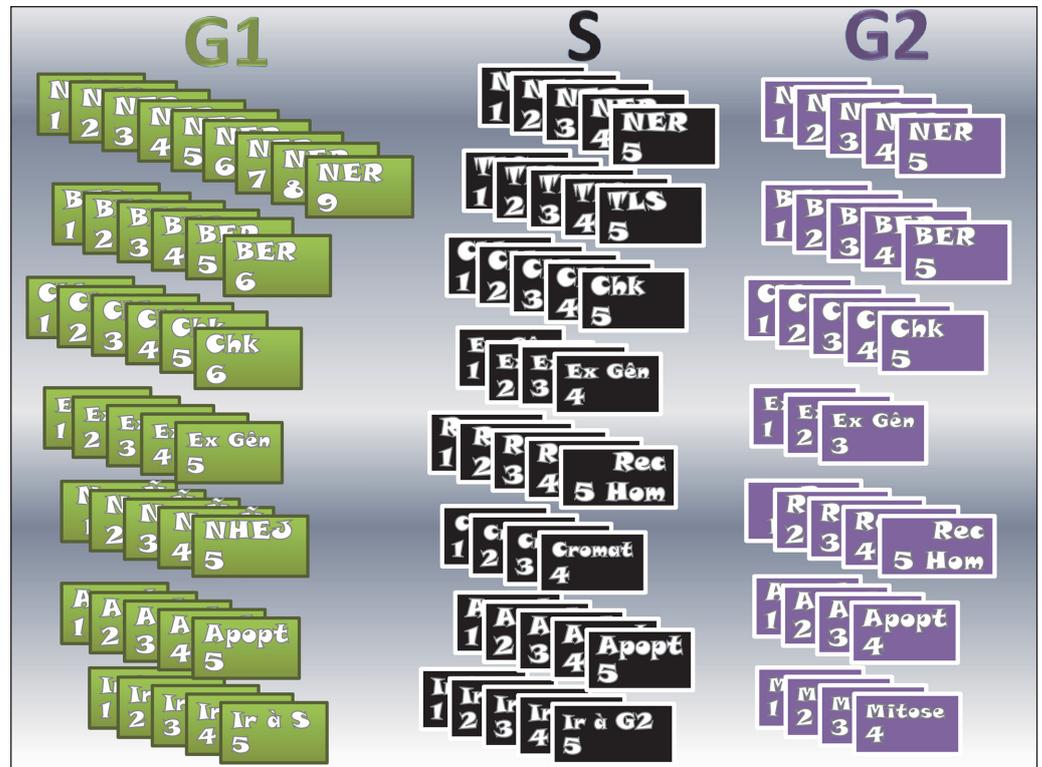


pode escolher: Reparo por excisão de Nucleotídeos (NER), cartão 1; ou NER cartão 5; ou Ativação de checkpoint, car-

tão 2, e assim por diante. Na fase S, surge também a opção de Síntese translesão e Remodelamento de Cromatina.

**Figura 1.**

Telas em *Power Point* com escolha das ações do *Jogo Resposta ao dano no DNA*. Existem diferentes possibilidades de escolha dependendo da fase do ciclo celular. Em G1, pode ocorrer Reparo por excisão de nucleotídeos (NER) para dímeros causados por UV; Reparo por excisão de bases (BER), para reparar bases oxidadas como consequência da radiação solar; Ativação de Checkpoint (Chk), para continuar na mesma fase do ciclo; Modular Expressão Gênica (Ex Gên), para responder de maneira mais eficiente ao danos; Ligação de extremidades não homólogas (*Non homologous end-joining -NHEJ*), para reparos de duplas-quebras quando não se tem cromátide irmã; Ativar Apoptose (Apopt), para sacrifício celular; ou Progredir direto à fase S (Ir à S), sem querer ativar nada. Na fase S, pode ocorrer Síntese Translesão (TLS), para progredir evitando bloqueio na forquilha de replicação; Recombinação Homóloga (Rec Hom), pois em fase começa a síntese da cromátide irmã; e Remodelamento da cromatina (Cromat), para auxiliar em um reparo mais eficiente, além da progressão direta à fase G2 (Ir à G2), em que além de todas opções, é possível tentar entrar em Mitose sem ativar nada (Mitose). (Uma súmula da teoria passará para o início da atividade).



- Para remover cada tipo de lesão deve-se escolher a ação apropriada, incluindo a via de reparo correta. Assim, para quem tem lesão de dupla-quebra no DNA, de nada adianta escolher a via de reparo por excisão de nucleotídeos (NER), por exemplo. Nas fases G1 e S, escolhas adequadas têm maior chance de obter um cartão de sorte, enquanto que escolhas inadequadas, maior chance de azar e acúmulo de mutações. Assim, a estratégia de que ações tomar de acordo com a situação é determinante para uma progressão sem mutações no DNA. Em G2/M, os cartões são de Pergunta e Resposta assim, para conseguir o benefício do cartão, é necessário acertar a questão. O professor coordenará a leitura das perguntas e revelará a resposta, auxiliando o aluno a decidir sobre como deverá fazer (ganhar uma mutação, remover danos no DNA, progredir no ciclo ou manter-se na mesma fase, indo para o fim da fila)
- Os benefícios podem ser a remoção de lesão ou então um bônus, que multiplica o reparo conseguido na rodada seguinte. Assim, se uma célula conseguir o Bônus Reparo x3 em uma rodada e conseguir ativar reparo NER em uma rodada seguinte, a remoção de lesões será triplificada, ao invés de reparar 1 dano; serão reparados 3 danos no DNA. O bônus de reparo pode ser guardado e utilizado no momento desejado, podendo inclusive ter valor acumulativo.
- Após a escolha da ação, a célula pode avançar no ciclo ou manter-se na mesma fase mais uma rodada, dependendo da consequência da ação escolhida. Caso permaneça, o participante deverá dirigir-se ao final da fila de sua fase celular. Se permanecer a rodada em fase S, acumula-se automaticamente mutações proporcionais às lesões:
 

5 ou 4 lesões causadas por UV solar = 2 mutações pontuais;

3 ou 2 lesões causadas por UV solar = 1 mutação pontual;

Se passou por mitose com 1 lesão dupla-quebra não reparada = Aneuploidia (equivalente a 3 mutações)

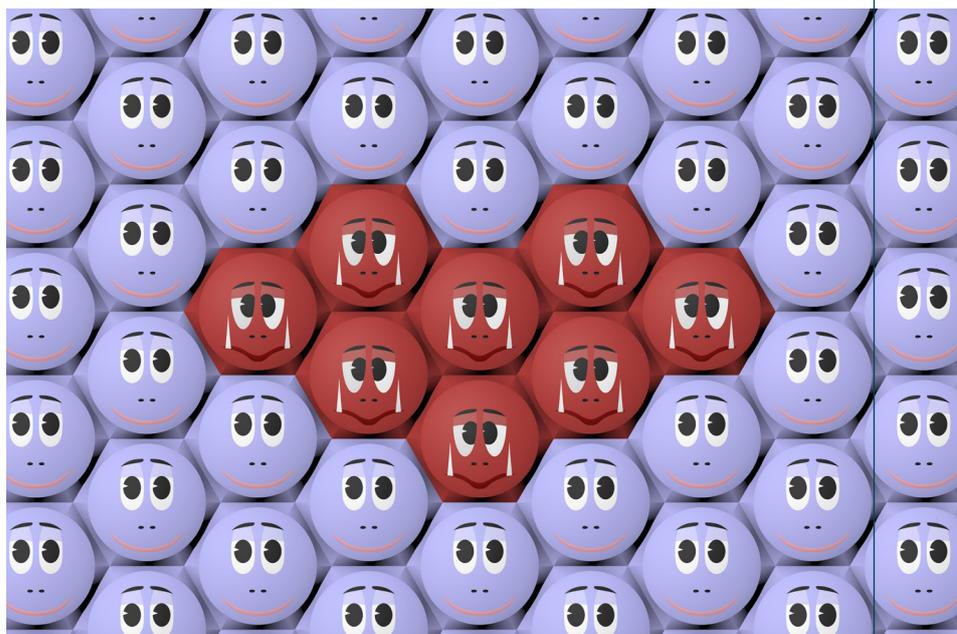
10. O vencedor do jogo é a célula que, após o término dos cartões, ou após um número de rodadas predefinido, sobreviveu sem se transformar em tumor (medalha de OURO). Aqueles que impediram tumorigênese através de morte celular ou senescência ficam com o prêmio de consolação (medalha de PRATA); enquanto que os perdedores são aqueles se transformaram em tumor. Ainda, sugere-se a criação de prêmios de destaque, com a premiação de bombons, por exemplo, para estimular as células a progredirem no ciclo e tentarem reparar todas lesões:

PRÊMIO REPLICADOR – aquele que completou mais mitoses

PRÊMIO HOMEOSTASE – aquele que terminou com menos lesões

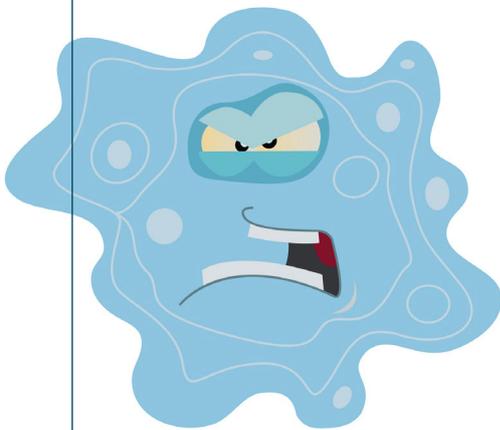
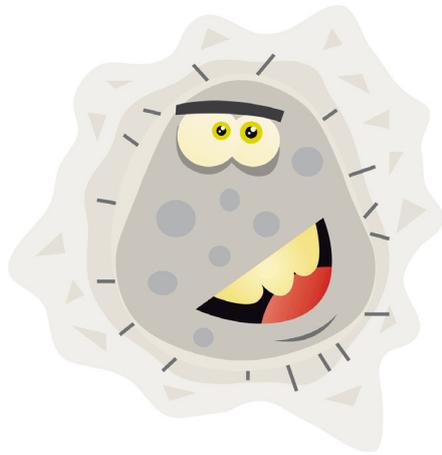
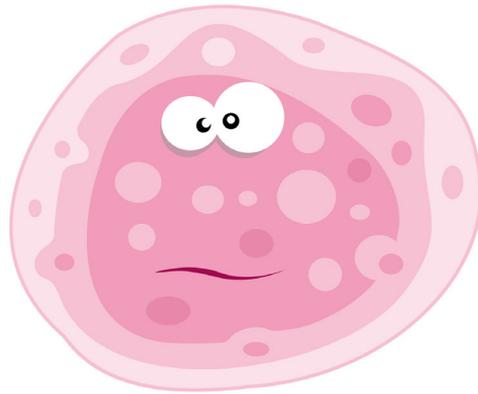
## PROCEDIMENTO PARA O PROFESSOR

1. Imprimir, com antecedência, o Anexo 1 e recortar Lesões UV (2 páginas), Lesões Dupla-Quebra (1 página) e Mutações (2 páginas).
2. Garantir projeção para o dia do jogo, para apresentação do Anexo 2, com explicação das regras para os alunos e cartões de escolha.
3. No dia do jogo, após explicação do jogo, distribuir 5 lesões UV a cada um dos participantes e dividi-los em 3 filas (G1, S, G2)
4. Coordenar a escolha dos cartões, indicando que ações o aluno pode escolher. Após a escolha, o professor deve clicar na respectiva escolha e ler a consequência ou a pergunta (para revelar a pergunta, basta clicar no botão “Resposta” quando em modo de apresentação). Para voltar à tela com as opções de escolha é só clicar no botão “Voltar”. Em seguida, deve distribuir e recolher as lesões no DNA e mutações do Anexo 1 correspondentes à consequência



(lembrando-se de verificar bônus). Por fim, deve guiar o aluno para qual fila deve seguir.

5. O professor deve ficar atento para saber se o aluno possui lesões de dupla-quebra quando entrar em mitose ou lesões causadas por luz solar em fase S, que não foram reparadas ao término da rodada, para então distribuir mutações adquiridas de maneira adequada. Aconselha-se um monitor para auxiliar a distribuir lesões e mutações.
6. Alunos que virarem tumor ou morrerem, saem da fila e não jogam mais. O fim do jogo pode ser de acordo com um tempo determinado ou quando acabarem as opções de ações – já que uma ação não pode ser escolhida 2 vezes. Então, o professor conta quantos sobreviveram, quantos morreram e quantos viraram tumor, podendo preencher a tela final (Por exemplo: com 20 participantes, ao término do jogo, 10/20 sobreviveram; 6/20 viraram tumor e 4/20 entraram em apoptose ou senescência). Como sugestão, pode-se se dar um prêmio (como um chocolate) ao sobrevivente que passou por mais mitoses e ao que terminou com menos lesões. Por fim, o professor comenta sobre quais estratégias foram mais vantajosas, retomando os conceitos teóricos e faz uma reflexão sobre a atividade.



## REFLEXÃO SOBRE A ATIVIDADE

Cada aluno começa com 5 lesões causadas por luz solar e deverá refletir o que será mais adequado para não acumular mutações. Assim, um ponto crucial é diferenciar lesão no DNA e mutação. No caso de danos causados por UV, mutações pontuais ocorrem principalmente quando o DNA lesionado é replicado. Por ser um processo semiconservativo, o DNA a ser sintetizado usa o DNA lesionado como molde,

aumentando-se a chance de incorporações errôneas de bases, alterando a informação genética e gerando uma mutação. No caso de dupla-quebra no DNA, não é necessário replicação para gerar uma mutação, já que translocações e inversões ocorrem quando fragmentos são ligados de maneira incorreta, resultando em rearranjos cromossômicos, como no caso da ocorrência de reparo que liga extremidades não homólogas. Porém, o maior perigo para a estabilidade genômica ocorre quando há persistências de quebras durante a mitose e separação desigual dos cromossomos durante a anáfase, o que resultará em aneuploidia. Como consequência, a tumorigênese é acelerada, já que por afetar cromossomos inteiros, existe potencial de gerar mais mutações e, assim, aumenta a chance de mais genes supressores de tumor serem afetados.

Além disso, lesão de um tipo pode se transformar em outra. Dímeros de pirimidina bloqueiam a DNA polimerase e podem gerar quebras no DNA quando a forquilha de replicação sofre colapso. Assim, a melhor alternativa para a célula não depende só do tipo de lesão, mas também da fase do ciclo celular em que se encontra. Durante a replicação com danos, existe o risco de bloqueio da replicação com as DNA polimerases mais fiéis, com menor taxa de erros, devido ao sítio catalítico mais restrito. Será melhor tentar reparar em fase S ou fazer síntese translesão e reparar em G2? Para uma célula, o pior cenário é a presença de lesões em fase S, pois além de aumento do número de mutações pontuais, aumenta-se a chance de converter um dímero em quebras no DNA, lesões estas que geram maior instabilidade genômica e são mais letais à célula.

Mas a resposta ao dano não envolve apenas reparo de DNA. Antes de tentar reparar os danos logo no começo e prosseguir no ciclo celular, a célula se prepara para tal situação com modulação da expressão gênica (fatores de transcrição como p53 são ativados e induzem a produção de mais proteínas de reparo como XPC no Reparo por excisão de nucleotídeos e de proteínas que controlam o ciclo celular como p21) e remodelamento de cromatina (modificação pós-tra-

ducionais em histonas; como a fosforilação da histona H2AX facilita o recrutamento de proteínas de reparo), além de ativação de *checkpoints* (parada no ciclo celular proporciona mais tempo para reparo e impede replicação ou mitose com danos no DNA). Assim, os participantes com estratégia de primeiro ativar *checkpoints* e modular expressão gênica e só depois reparar o DNA, conseguirão maior êxito na remoção e, assim, diminuirão a chance de mutações e tumorigênese. Assim, alunos na fase G1 e S não dependerão somente da sorte ou azar com a escolha do cartão, já a escolha da estratégia é determinante para seu sucesso no jogo. Um aluno em fase S que escolhe reparar, quase certamente permanecerá em fase S na rodada seguinte e ganhará mutações por isso. Aquele aluno que perceber que a melhor estratégia é fazer a síntese translesão e sair da fase S para remover as lesões em G2 se sairá bem melhor, na média, mesmo existindo carta de azar. Além disso, com o passar das rodadas, os cartões vão se esgotando, portanto quem demorar para escolher a melhor estratégia será forçado a escolher cartões inadequados e terá a disposição mais cartas de azar.

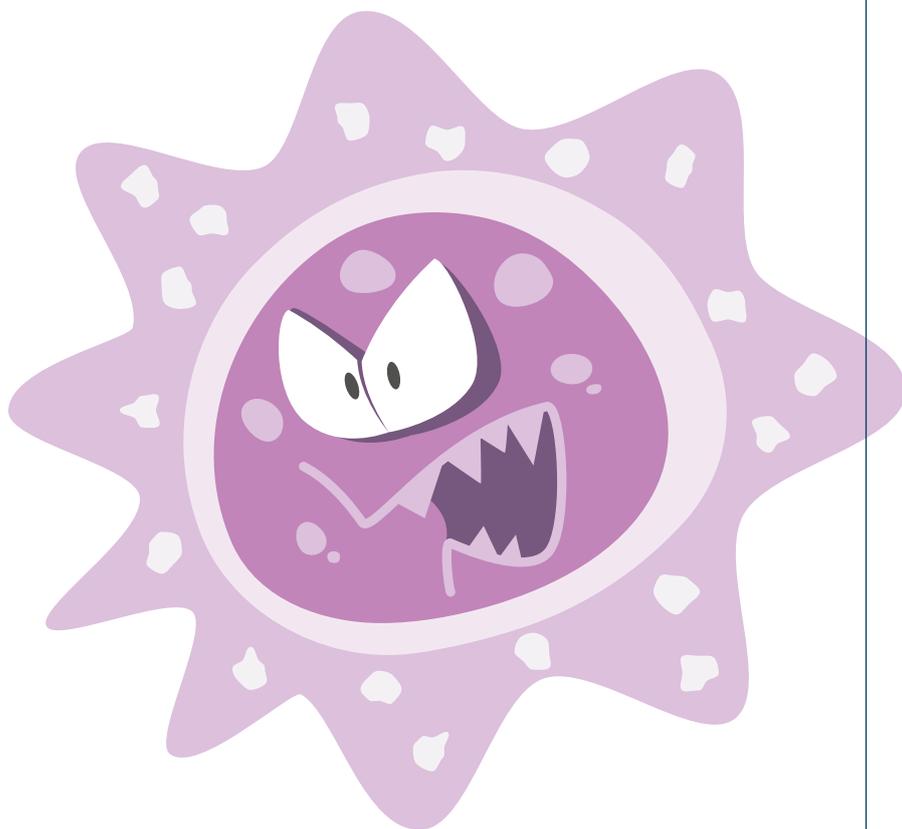
Por fim, a sinalização pode ativar senescência ou morte celular em último caso, quando quantidade de lesões é elevada. Durante o jogo, se há muitas lesões e já se acumularam 4 mutações, é melhor reparar o dano ou ativar apoptose? A célula não consegue identificar se tem muitas mutações e está perto de virar um tumor, como na nossa atividade lúdica, mas indica que existe uma sinalização em relação aos danos que pode ser acionada em última estância, o que evita um desastre ainda maior. Afinal, célula morta, não vira tumor.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Gisella Grazioli pelo suporte e primeiros testes. Agradeço a todo laboratório de Reparo de DNA e ao Prof. Dr. Carlos Menck pelas críticas e apoio para fazer com que jogo fosse parte do conteúdo do Curso de Difusão “Respostas aos danos no DNA – Implicações em envelhecimento e câncer” e ao Departamento de Microbiologia do ICB-USP pelo suporte ao curso de Difusão.

## REFERÊNCIAS

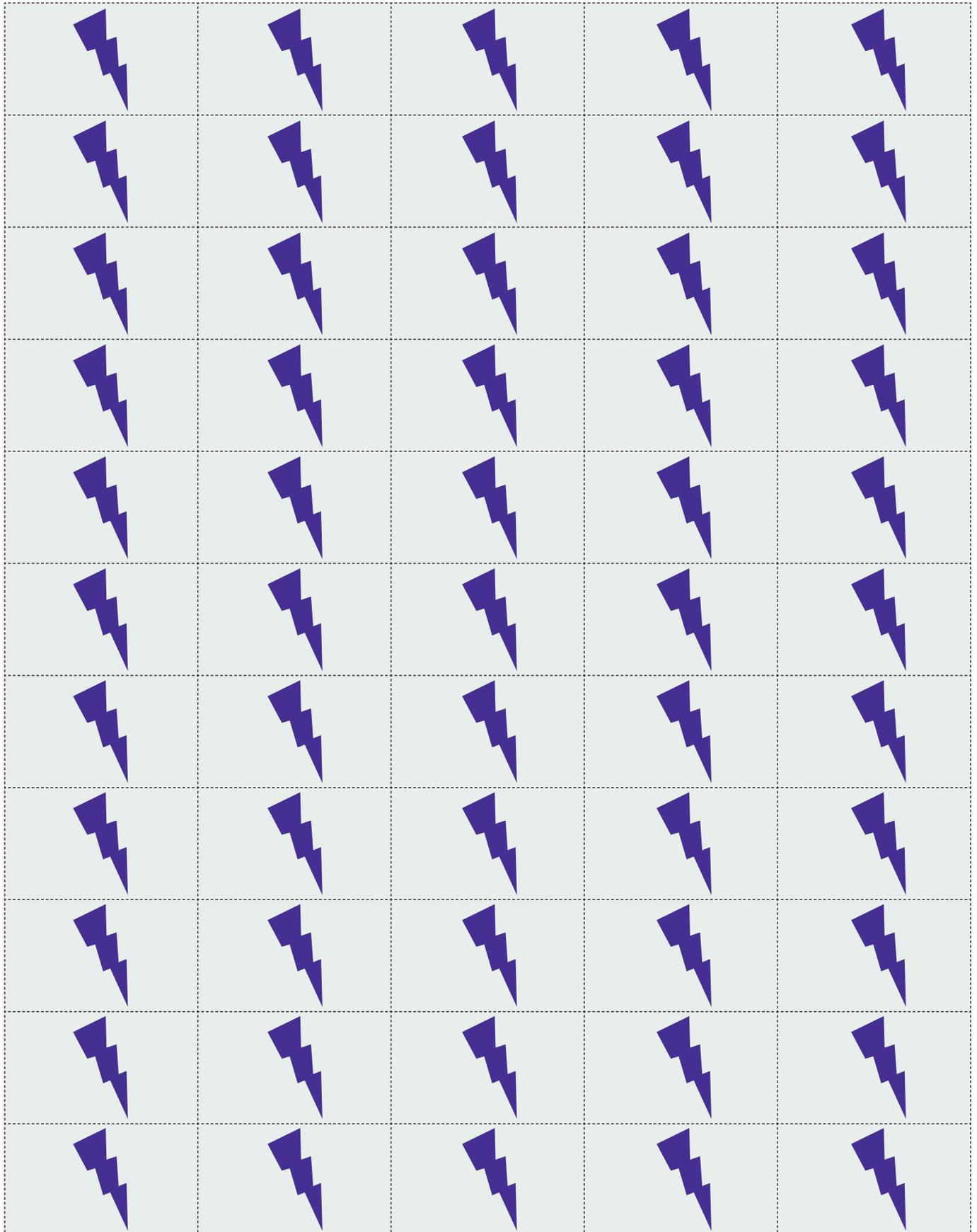
- BARTEK J.; BARTKOVA J.; LUKAS J. DNA damage signaling guards against activated oncogenes and tumor progression. *Oncogene*, v. 26, n. 56, p. 7773-9, 2007.
- BRANZEI D.; FOIANI, M. Regulation of DNA repair throughout the cell cycle. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v.9, n. 4, p. 297-308, 2008.
- CHANG, D. J.; CIMPRICH K. DNA damage tolerance: when it's OK to make mistakes. *Nature Chemical Biology*, v. 5, n. 2, p. 82-90, 2009.
- COSTA R. M. A.; ORTOLAN T. G.; LIMA-BESSA K. M.; MENCK, C. F. M. Processos de Reparo de DNA: os guardiões do genoma celular. In: Carlos Gil Ferreira; José Cláudio Casali da Rocha, Ed. *Oncologia Molecular*. 2ª Edição. São Paulo, Editora Atheneu, p. 41-61, 2010.
- LJUNGMAN, M. The DNA damage response-repair or despair? *Environmental and molecular mutagenesis*, v. 51, n. 8-9, p. 879-89, 2010.



**ANEXO 1**

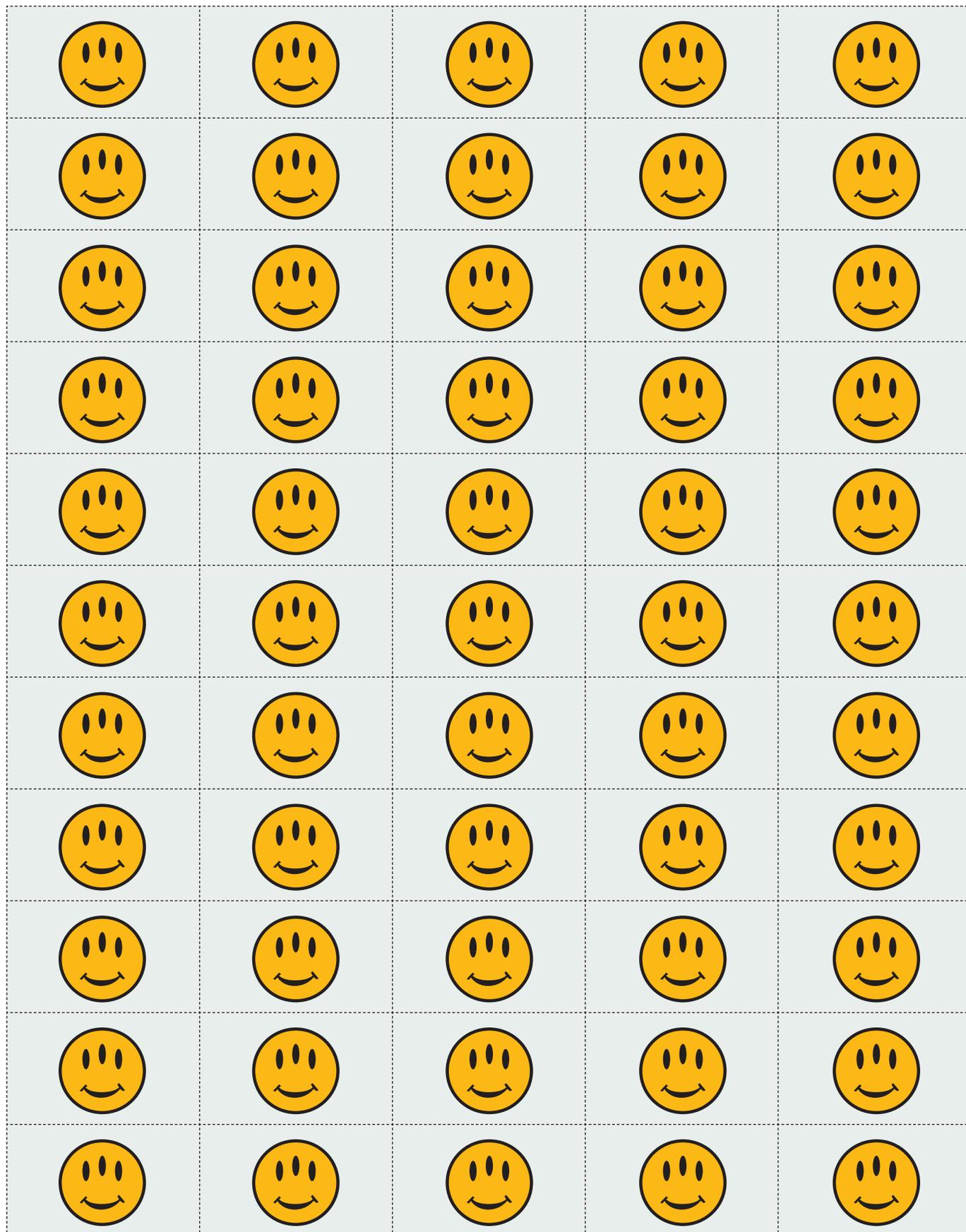
**Danos por UV solar**

Imprimir 2 vezes



### Mutações

Imprimir 2 vezes



# Dupla quebra do DNA

Imprimir 1 vez

