

Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações

Epigenetics: gene expression regulation at transcriptional level and its implications

Everton de Brito Oliveira Costa^{1,2}; Cristiane Pacheco²

Resumo

A epigenética compreende um conjunto de mecanismos que promovem a regulação da expressão gênica a nível transcricional através de modificações químicas no DNA e na cromatina, como metilação, acetilação e fosforilação, que resultam na conseqüente mudança fenotípica do indivíduo sem, no entanto, ocorrer nenhuma alteração na seqüência do DNA. Essas modificações químicas no DNA são constantemente feitas e desfeitas durante toda a vida do indivíduo, exceto para marcações químicas constitutivas que são herdadas geneticamente, visto que freqüentemente os indivíduos entram em contato com agentes promotores desses fenômenos durante a vida. Alterações nos padrões epigenéticos promovendo a expressão aberrante ou o silenciamento de determinados genes podem aparecer em organismos com idade avançada, e em uma ampla variedade de eventos e patologias como no câncer, na inativação do cromossomo X, no *imprinting* genômico, e em diversas síndromes de ordem neurológica e de prejuízo no desenvolvimento motor. Desse modo, busca-se atualmente o desenvolvimento de drogas que possuem a capacidade de reverter as marcações químicas alteradas em regiões específicas do genoma relacionadas a determinadas doenças. Uma maior compreensão desse universo da epigenética associada com suas implicações aos estados fisiológicos normais e patológicos mostra-se como uma grande promessa nessa era molecular, para o desenvolvimento de ferramentas profiláticas, diagnósticas e terapêuticas de uma ampla variedade de doenças.

Palavras-chaves: Metilação. Acetilação. *Imprinting* genômico. Terapia epigenética.

Abstract

Epigenetics includes several mechanisms that promote the gene expression regulation at transcriptional level through chemical changes in DNA and chromatin, such as methylation, acetylation and phosphorylation, resulting in phenotypic change without no changes occur in the DNA sequence. These DNA chemical changes are constantly made and unmade throughout the individual life, except for constitutive chemical markings that are genetically inherited, because often people are in contact with agents that promote these phenomens during their lifes. Changes in epigenetic patterns promoting aberrant expression or gene silencing may appear in aged organisms, and in a wide variety of events and conditions such as cancer, X chromosome inactivation in genomic imprinting, and in various neurological and motor development syndromes. Thus, seek currently drugs development that have the ability to reverse altered chemical markings in specific regions of the genome related to certain diseases. A greater understanding of the epigenetic universe associated with its implications to normal physiological and pathological states, it is a great promise in molecular era to development of prophylactic, diagnostic and therapeutic tools of a wide variety of diseases.

Keywords: Methylation. Acetylation. Genomic imprinting. Epigenetic Therapy.

*Correspondência autor: ¹Laboratório de Biologia Celular – Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, Rua Tenente Catão Roxo, 2501, Cidade Universitária, Ribeirão Preto/SP, Brasil, CEP: 14051-140, E-mail: evertoncosta_biomedicina@yahoo.com.br.

²Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário da Grande Dourados/MS, Brasil.

Epigenética

O termo epigenética significa “em adição à informação genética codificada no DNA” (FEINBERG; TYCKO, 2004) e é genericamente utilizado para definir mudanças que ocorrem na expressão gênica sem, no entanto, ocorrer nenhuma alteração na seqüência do código genético (GIBBS, 2007; JIRTLE; SKINNER, 2007; WAGGONER, 2007). Assim, a epigenética constitui uma camada “extra” de regulação da expressão gênica a nível transcricional. Alguns mecanismos epigenéticos incluem a metilação do DNA, o *imprinting*, mudanças na conformação da cromatina e o silenciamento mediado por RNA (MOSS; WALLRATH, 2007; RODENHISER; MANN, 2006; SULEWSKA et al., 2007).

As alterações epigenéticas correspondem a uma série de modificações moleculares no DNA e na cromatina (RICHARDS, 2006; TALBERT; HENIKOFF, 2006). A dinâmica de ligação de histonas e condensação da cromatina é regulada por padrões epigenéticos de metilação do DNA e modificações químicas das histonas por enzimas como DNA metiltransferases (DNMTs), histona acetiltransferases (HATs), histona deacetilases (HDACs), proteínas de ligação a grupos metis (MECP2), e histonas metiltransferases (KIEFER, 2007; MOSS; WALLRATH, 2007; WAGGONER, 2007; WEIDMAN et al., 2007).

Essas modificações químicas no DNA são constantemente feitas e desfeitas durante toda a vida do indivíduo, exceto para marcações químicas constitutivas que são herdadas geneticamente, visto que freqüentemente os indivíduos entram em contato com agentes promotores desses fenômenos durante a vida (HOWELL et al., 2009; JIRTLE; SKINNER, 2007). Assim, alterações epigenéticas podem ser desencadeadas no genoma de um indivíduo em qualquer momento de sua vida, levando ou não ao desenvolvimento de determinadas patologias.

O epigenoma pode ser transmitido às células descendentes, mantendo um padrão de epigenótipo

específico dentro de linhagens celulares durante gerações. Desse modo, o fenótipo passa a ser resultado não apenas do genótipo, mas também do epigenótipo, o qual permite um segundo nível de controle da expressão gênica e que se mostra tão plástico quanto o genótipo (GIBBS, 2007; JIANG; BRESSLER; BEAUDET, 2004; JIRTLE; WIEDMAN et al., 2007). As alterações epigenéticas podem ser herdadas transgeracionalmente, afetando a saúde das gerações celulares futuras (JIRTLE e SKINNER, 2007). Além disso, essas alterações podem também ser herdadas mitoticamente em células somáticas, um potencial mecanismo pelo qual o ambiente afeta o epigenoma, podendo produzir efeitos sobre a expressão gênica por um longo período de tempo (JIRTLE; SKINNER, 2007; MURPHY; JIRTLE, 2003).

A regulação epigenética está envolvida na expressão gênica tecido-específica e no silenciamento de elementos transponíveis, inibindo a replicação e transposição dos mesmos e, desse modo, prevenindo a inserção de agentes mutagênicos em outras partes do genoma (HOWELL et al., 2009; JIRTLE; SKINNER, 2007).

O epigenoma está particularmente susceptível à desregulação por fatores ambientais durante a gestação, desenvolvimento neonatal, puberdade e idade adulta (ISSA, 2000). Evidências de estudos em animais indicam que a exposição a fatores ambientais como radiação e outros agentes químicos e físicos, durante os períodos pré e pós-natal podem resultar numa programação epigenética alterada e, por conseqüência, em um elevado risco de desenvolvimento de doenças (JIRTLE; SKINNER, 2007). Adicionalmente, tem sido especulado que erros epigenéticos poderiam ser os principais causadores de doenças humanas (JIANG; BRESSLER; BEAUDET, 2004).

Metilação

A metilação do DNA é uma das modificações químicas que mais freqüentemente ocorrem em eucariotos como plantas, fungos, vertebrados e

invertebrados (KILGORE, 2007; ZILBERMAN, 2007). É uma modificação química na qual normalmente ocorre a adição de um grupamento metil à posição C5 do anel da citosina, catalizada por enzimas DNA metiltransferases, levando à formação de 5-metilcitosina (CAIAFA; ZAMPIERI, 2005; FAN et al., 2009; KLOSE; BIRD, 2006). A frequência de 5-metilcitosina corresponde a menos de 1% do número total de nucleotídeos do genoma, perfazendo uma quantidade bem menor que o esperado (SULEWSKA et al., 2007).

Esse processo de metilação exerce importantes funções no desenvolvimento embrionário normal, inativação do cromossomo X, regulação gênica, *imprinting* genômico e modificações da cromatina (BIRD, 2002). Alterações nos padrões de metilação do DNA podem aparecer em organismos com idade avançada e nos estágios iniciais da carcinogênese (BAYLIN; HERMAN, 2000; BIRD, 2002; HERMAN; BAYLIN, 2003). Ainda, a hipermetilação de regiões promotoras ricas em dinucleotídeos CG exerce importante função sobre a expressão gênica levando à perda da expressão do gene (LUCZAK; JAGODZINSKI, 2006). Muito tipicamente, a hipometilação do DNA desencadeia um aumento na expressão gênica, enquanto a hipermetilação diminui a expressão dos genes-alvo (LIDDLE; JIRTLE, 2006).

Não obstante, uma característica marcante dos genomas eucarióticos é a presença de regiões metiladas interpostas em regiões não-metiladas. Entretanto, as distribuições de dinucleotídeos CpG (citosina-fosfato-guanina) e 5-metilcitosinas mostram-se não-aleatórias (BIRD, 2002; CAIAFA E ZAMPIERI, 2005). Dinucleotídeos CpG, geralmente, são metilados em células normais, à exceção da hipometilação de regiões CpG adjacentes a genes ativos (LUND; LOHUIZEN, 2004). A modificação de citosina para 5-metilcitosina, faz com que fatores de transcrição como AP-2, cMYC/MYN, CREB, E2F e NFκB não reconheçam e não se liguem aos sítios de iniciação da transcrição. No entanto, esses sítios de ligação podem ser ocupados

por outras proteínas como MeCP-2, MBD1, MBD2, MBD3 e MBD4, que se ligam às citosinas metiladas e estimulam a condensação da cromatina, inativando o gene (CAIAFA; ZAMPIERI, 2005; WILSON et al., 2007).

As enzimas responsáveis pela adição de grupo metil às moléculas de citosina pertencem à família das DNAs metiltransferases (DNMTs), incluindo DNMT1, DNMT3A, DNMT3B e suas isoformas, e DNMT3L (FAN et al., 2009; KIEFER, 2007; KLOSE; BIRD, 2006). A DNMT1 é a principal responsável pela manutenção dos padrões de metilação do DNA durante a mitose. Já as DNMTs3, são responsáveis pela metilação *de novo* das moléculas de DNA recém-sintetizadas, sendo particularmente importantes durante os estágios iniciais do desenvolvimento embrionário (KLOSE; BIRD, 2006; MOSS; WALLRATH, 2007; WEIDMAN et al., 2007). Algumas isoformas da DNMT3B, geradas por *splicing* alternativo, estão intimamente associadas a algumas neoplasias como câncer de mama, de bexiga e carcinoma hepatocelular (ISSA, 2000; JAENISCH; BIRD, 2003; LUCZAK; JAGODZINSKI, 2006).

Ainda, eventos como acetilação, metilação, fosforilação e ubiquitinação, frequentemente ocorrem na cauda das histonas que se estendem do centro dos nucleossomos (HOWELL et al., 2009; MOSS; WALLRATH, 2007). As enzimas histona acetilases adicionam grupos acetis aos resíduos de lisina das histonas, e acredita-se que as histonas acetiladas possuem uma afinidade reduzida pelo DNA e umas pelas outras, tornando a cromatina em sua conformação aberta e transcricionalmente ativa. Já as histonas deacetilases promovem a remoção de grupos acetis, tornando a cromatina mais condensada e impedindo a expressão gênica (AUSIO et al., 2003). Estas modificações químicas alteram a interação entre o DNA e as histonas, alterando o grau de enovelamento da cromatina e a atividade gênica (MOSS; WALLRATH, 2007; STRAHL; ALLIS, 2000).

Em contrapartida, a metilação das histonas parece ser uma marcação epigenética não promotora de estados de eucromatina e heterocromatina, uma vez que a metilação da extremidade N-terminal do resíduo de lisina 9 da histona H3 é observado em regiões gênicas inativas como centrômeros, telômeros e promotores gênicos silenciados, e a metilação da lisina 4 da histona H3 é encontrada, predominantemente, nos promotores de genes ativos (EGGER et al., 2004).

Adicionalmente, algumas regiões do DNA são ricas em seqüências dinucleotídicas CpG, formando as chamadas ilhas CpG. Essas regiões da cromatina são fortemente acetiladas e, freqüentemente, a acetilação ocorre no resíduo de lisina 9 da histona H3, deixando a cromatina em sua configuração ativa (CAIAFA; ZAMPIERI, 2005; WILSON et al., 2007). As ilhas CpG correspondem a regiões genômicas com mais de 500 pares de bases de comprimento e com um grande número de dinucleotídeos GC, sendo que cerca de 55% dessas ilhas estão localizadas nas regiões promotoras de aproximadamente 40% dos genes dos mamíferos. Normalmente, essas ilhas CpG são mantidas não-metiladas, exceto em genes sujeitos ao *imprinting* ou situados no cromossomo X inativo (HERMAN; BAYLIN, 2003; ISSA, 2000), o que permite a ligação de proteínas e enzimas que iniciam a transcrição. Em contrapartida, ilhas CpG metiladas relacionam-se com o silenciamento transcricional (EGGER et al., 2004; HOWELL et al., 2009). Cerca de 70% dos dinucleotídeos CpG no genoma humano são metilados constitutivamente, em contrapartida da maioria dos CpGs não-metilados que encontram-se em ilhas CpG. Visto que, grande parte dos dinucleotídeos CpG metilados existem em regiões genômicas de elementos transponíveis inseridos no genoma humano, e estes impedem a iniciação da transcrição e a transposição desses elementos (JONES; TAKAI, 2001). Essas evidências demonstram que o processo de metilação da cromatina é uma das mais importantes manifestações epigenéticas e que o seu estabelecimento no genoma correlaciona-se com a ativação ou silenciamento gênico.

Imprinting genômico

Todos os indivíduos herdam duas cópias de todos os genes autossômicos, sendo uma cópia materna e outra paterna. Ambas as cópias são funcionais para a maioria desses genes, contudo, em um pequeno grupo de genes, uma cópia é desativada dependendo se sua origem é materna ou paterna (WATERLAND et al., 2006). Estes genes são chamados “*imprinted*”, porque uma cópia do gene foi epigeneticamente marcada ou no óvulo ou no espermatozóide. Sendo assim, a expressão alélica de um gene *imprinted* depende se ele é originário do macho ou da fêmea das gerações prévias. No entanto, a expressão de genes *imprinted* pode variar entre tecidos, estágios de desenvolvimento e espécies (JIRTLE; WEIDMAN, 2007; KIEFER, 2007; MURPHY; JIRTLE, 2003; REIK; WALTER, 2001).

As marcações epigenéticas são estabelecidas ainda durante o desenvolvimento embrionário, e no embrião, elas distinguem os cromossomos herdados do pai e da mãe. Em contraste à expressão gênica autossômica normal, que consiste na expressão bialélica da grande maioria dos genes, os genes *imprinted*, são inativados ou no cromossomo materno ou no cromossomo paterno, passando a ser expresso monoalelicamente, ou seja, somente um alelo continua ativo (ISLES; DAVIES; WILKINSON, 2006; JIRTLE; WEIDMAN, 2007; REIK; WALTER, 2001).

Desse modo, as regiões de *imprinting* são efetivamente haplóides, o que as torna vulneráveis a mutações recessivas e mudanças epigenéticas. Muitas desordens de desenvolvimento e algumas outras doenças humanas, inclusive o câncer, estão ligadas a genes com *imprint*. Além disso, por estes genes estarem freqüentemente agrupados e serem controlados coordenadamente pelos Centros de *Imprinting* (MURPHY; JIRTLE, 2003), uma única alteração epigenética ou genética na região pode perturbar muitos genes (JIRTLE; WEIDMAN, 2007; JIRTLE; SKINNER, 2007).

Os mecanismos do *imprinting* são ainda incompletamente definidos, mas admite-se que

as marcações epigenéticas herdadas dos pais, são passadas em todas as células somáticas do indivíduo, porém, nas células germinativas em desenvolvimento quando o indivíduo ainda é embrião, essas marcações precisam, inicialmente, serem apagadas para serem restabelecidas posteriormente, refletindo as marcações herdadas de seu sexo-correspondente, ou seja, as filhas restauram as marcações materna em suas células germinativas, enquanto os filhos restabelecem as marcações herdadas do pai. Desse modo, pode-se dizer que o *imprinting* ocorre de maneira sexo-específica (REIK; WALTER, 2001; MURPHY; JIRTLE, 2003; KIEFER, 2007; JIRTLE; WEIDMAN, 2007).

O fenômeno de *imprinting* genômico, provavelmente envolveu um ancestral comum dos marsupiais e dos animais eutérios há mais de 150 milhões de anos (KILLIAN et al., 2000). No entanto, muitas teorias têm sido propostas para explicar o surgimento do *imprinting* genômico. Uma das mais bem aceitas é a teoria do conflito ou teoria do “cabo-de-guerra genômico”, a qual diz que os genes paternos que os filhotes herdam visam à maximização do aproveitamento dos nutrientes maternos, promovendo o desenvolvimento do filhote, conferindo-lhe uma boa forma e garantindo a sua sobrevivência após o nascimento. Em contrapartida, o genoma materno tenta compensar esse desbalanceamento genômico distribuindo os recursos de modo igualitário entre todos os filhotes e garantindo o sucesso da gestação (ISLES; DAVIES; WILKINSON, 2006; MURPHY; JIRTLE, 2003; REIK; WALTER, 2001).

Outra hipótese é que o *imprinting* genômico surgiu como resposta ao silenciamento de DNAs estranhos como transposons. Experimentos demonstraram que, de modo similar, transgenes tornam-se metilados, a exemplo de outros parasitas genômicos (SUZUKI et al., 2007). Utilizando análise comparativa entre espécies animais para o gene *Pegio*, um gene *imprinted* derivado de um retrotransposon, Suzuki et al. (2007), verificaram que o *imprinting* desse gene está associado a regiões diferencialmente metiladas em animais

terrestres e que pode ter sido originado da repressão de DNAs exógenos e/ou pela metilação do DNA de retrotransposons.

Imprinting genômico e desordens de comportamento

Estudos recentes têm procurado elucidar a participação do *imprinting* no comportamento, em doenças mentais humanas e no funcionamento do cérebro, tendo em vista que um grande número de genes *imprinted* são expressos no cérebro (DAVIES; ILHAS; WILKINSON, 2001; ISLES; DAVIES; WILKINSON, 2006; JIRTLE; SKINNER, 2007).

Algumas pesquisas demonstram que alguns genes *imprinted* expressos no cérebro exibem importantes funções sobre o comportamento. Um exemplo é a síndrome de Angelman, uma desordem neurogenética provocada pela dissomia uniparental do cromossomo 15 paterno, onde a ausência da expressão dos genes *UBE3A* e *ATP10C* situados na região 15q11-13 e expressos apenas maternamente levaria ao comportamento típico dessas pessoas caracterizado por sociabilidade exacerbada, risadas freqüentes e sem motivo, e pouca demonstração de sinais afetivos negativos como raiva e choro (REIK; WALTER, 2001; WAGGONER, 2007; WEIDMAN et al., 2007).

Em contrapartida, uma superdosagem dos produtos gênicos de *UBE3A* e *ATP10C* na síndrome de Prader-Willi, causada pela dissomia uniparental do cromossomo 15 materno, leva à expressão desses genes e produz um comportamento inverso ao dos indivíduos com síndrome de Angelman. Pessoas com síndrome de Prader-Willi, muito tipicamente apresentam comportamentos de teimosia e fúria, e grande propensão ao desenvolvimento de psicose (BUITING et al., 2003; JIRTLE; SKINNER, 2007). Desse modo, acredita-se que os produtos dos genes *UBE3A* e *ATP10C* atuariam como limitadores dos sinais afetivos positivos, função esta que é perdida em indivíduos com síndrome de Angelman e que é exercida em demasia em indivíduos com síndrome de Prader-Willi (ISLES; DAVIES; WILKINSON, 2006; WAGGONER, 2007).

Adicionalmente, contribuindo com a elucidação funcional da epigenética sobre o comportamento, estudos em camundongos demonstraram que fêmeas que possuem uma cópia paterna nula ou do gene *Peg 1* ou do *Peg 3*, ambos expressos paternamente, mostraram uma deficiência grosseira em cuidados maternos bem como em comportamentos como placentofagia, cuidado com os filhotes, construção de ninho e amamentação (CURLEY et al., 2004). Além disso, pesquisas têm demonstrado que genes *imprinted* têm forte impacto sobre alguns aspectos como flexibilidade comportamental, memória, reações emocionais e noção espacial (DAVIES; ILHAS; WILKINSON, 2001; ISLES; DAVIES; WILKINSON, 2006).

Epigenética e desordens neurológicas e de desenvolvimento

Com a aumentada incidência das síndromes em indivíduos nascidos por reprodução assistida, Marques et al. (2004), procurando uma possível explicação para esse fato, investigaram possíveis perturbações epigenéticas na espermatogênese durante a manipulação dos gametas. Analisando a reprogramação epigenética dos espermatozoides, eles constataram que pacientes oligospermicos possuíam um elevado risco de transmitir erros de *imprinting* durante a fecundação artificial, levando ao desenvolvimento de patologias de ordem neurológica e de desenvolvimento nos conceptos.

Algumas outras doenças, caracterizadas por prejuízo no desenvolvimento físico, motor e neurológico, e causadas por desordens epigenéticas incluem: a Síndrome de Rubinstein-Taybi (RSTS), a Síndrome de Coffin-Lowry (CLS), a Síndrome do Retardo Mental/ α -Talassemia (ATR-X), e a Síndrome de Rett, as quais estão associadas a mutações em regiões genômicas onde se localizam genes responsáveis por estabelecer marcações epigenéticas como metilação ou acetilação (WAGGONER, 2007).

Alterações epigenéticas no câncer

A primeira evidência da participação da epigenética no desenvolvimento de neoplasias, surgiu da descoberta da hipometilação global do genoma e da hipermetilação de ilhas CpG normalmente não-metiladas, que abrigam promotores de genes responsáveis pelo controle do ciclo celular, reparo do DNA e apoptose, em câncer colorretal (FAN et al., 2009; MOSS; WALLRATH, 2007; REIK; WALTER, 2001). Muitos genes sensíveis ao silenciamento mediado pela metilação são genes supressores tumorais que regulam a divisão celular, e sua perda ou inativação pode levar a proliferação celular desordenada (LIDDLE; JIRTLE, 2006; WEIDMAN et al., 2007).

Diversos estudos mostram que alterações na metilação do DNA têm sido associadas a uma variedade de neoplasias humanas (FAN et al., 2009; FEINBERG; TYCKO, 2004; LIDDLE ; JIRTLE, 2006; LU et al., 2006;). Pesquisas mostraram que a hipo e a hipermetilação do DNA estão diretamente relacionadas com o câncer por meio de quatro mecanismos: demetilação global do DNA; hipermetilação de genes supressores tumorais; transição de 5-metilcitosina para timina em células tumorais; e, indução da instabilidade cromossômica (LI, 2002; LU et al., 2006; MOSS; SULEWSKA et al., 2007; WALLRATH, 2007).

A metilação de ilhas CpG de genes supressores tumorais promove o silenciamento desses genes e favorece a predisposição à carcinogênese (ATTWOOD; YUNG; RICHARDSON, 2002). Em contrapartida, a diminuição no padrão de metilação do DNA pôde ser observada em diversos tipos de neoplasias como câncer colorretal, de mama, de pâncreas, de estômago, de próstata, leucemias e mieloma múltiplo (WILSON et al., 2007). Normalmente, as células cancerosas exibem uma hipometilação global do genoma e uma hipermetilação de “ilhas CpG”. Essas alterações no padrão de metilação do DNA, muito frequentemente resultam em um inadequado silenciamento gênico,

principalmente de genes supressores tumorais, levando ao desenvolvimento de neoplasias (MOSS; WALLRATH, 2007).

Ainda, os padrões de metilação do genoma são alterados com o decorrer da idade. Geralmente ocorre uma hipometilação global concomitante com a hipermetilação de algumas ilhas CpG distribuídas em seqüências repetitivas, bem como em alguns genes transcionalmente relevantes (FRAGA et al., 2005). Alterações epigenéticas estão diretamente relacionadas ao avanço da idade, contribuindo com diversas desordens adquiridas como câncer e doenças auto-imunes (LU et al., 2006). A hipometilação genômica desencadeia uma instabilidade cromossômica, permitindo a ocorrência de mutações mais facilmente, e a superexpressão de proto-oncogenes. Além disso, a hipermetilação gene-específica pode levar ao silenciamento de muitos genes responsáveis pelo controle do ciclo celular, apoptose (BURZYNSKI, 2005).

Também, a perturbação das marcações epigenéticas das histonas em todo o genoma é um fenômeno típico observado nas células tumorais (FRAGA et al., 2005). A hipometilação global do genoma pôde ser observado em cânceres de mama (SZYF; PAKNESHAN; RABBANI, 2004), esôfago e fígado (CHALITCHAGORN et al., 2004), próstata (FLORL et al., 2004), tireóide (GALUSCA et al., 2005) e colorretal (FRIGOLA et al., 2005), enquanto a hipermetilação de ilhas CpG de genes envolvidos na regulação do ciclo celular, reparo do DNA, apoptose e diferenciação celular, como pôde ser observado em leucemia (MELKI et al., 2000) e em cânceres cervical (DONG et al., 2001), de próstata (JERÓNIMO et al., 2004), colorretal (BAI et al., 2004), de estômago (HONG et al., 2005), e de mama (LI; RONG; IACOPETTA, 2006).

Terapia epigenética

Muitos medicamentos capazes de alterar marcações epigenéticas genômicas já se encontram em fase de testes, contudo, a problemática agora, é encontrar um mecanismo para que a droga atue somente sobre esses sítios específicos e não promova uma modificação química global no genoma. No entanto, mesmo assim, grandes avanços já têm sido alcançados no desenvolvimento da terapia epigenética e essa constitui uma grande promessa para a futura terapêutica de inúmeras doenças.

Algumas drogas têm a capacidade de reverter os padrões de metilação e acetilação do DNA e histonas (APARÍCIO et al., 2009; MOSS; WALLRATH, 2007). Drogas que inibem a metilação do DNA poderiam restabelecer o controle do ciclo celular, reativando genes silenciados em células cancerosas. Estudos demonstraram que ao inibir a atividade das histonas deacetilases, ocorre um bloqueio do ciclo celular e apoptose das células por mecanismos desconhecidos, fazendo dessas enzimas possíveis alvos terapêuticos (GIBBS, 2007; LU et al., 2006; MOSS; WALLRATH, 2007; REIK; WALTER, 2001;).

Nucleosídeos análogos inibidores da metilação do DNA como 5-azacitidina, 5-aza-2'-deoxicitidina, zebularina; e, análogos não-nucleosídeos inibidores de metilação do DNA como epigallocatequina-3-galato, procaína, procainamida e hidralazina estão em fase de testes, sendo grandes promessas terapêuticas para reverter padrões de metilação do DNA alterados (APARÍCIO et al., 2009). No entanto, os inibidores não-nucleosídeos mostraram-se mais úteis no uso clínico, porque eles não requerem a incorporação do DNA, já os inibidores nucleosídeos apresentaram efeitos colaterais como reativação dos genes silenciados quando administrados em baixas doses, e citotoxicidade em altas doses (LU et al., 2006; WAGGONER, 2007; WEIDMAN et al., 2007).

Considerações Finais

A regulação da expressão gênica em eucariotos compreende mecanismos complexos, muitos dos quais apenas recentemente começaram a ser estudados mais profundamente e, portanto ainda são pouco entendidos. A epigenética, por sua vez, corresponde a uma camada de regulação gênica por muito tempo negligenciada pela ciência e que há alguns anos começa a mostrar-se extremamente importante na ativação e silenciamento gênico, aparecendo diretamente relacionada com processos fisiológicos normais e patológicos. Alguns fenômenos epigenéticos que incluem a metilação, a fosforilação e a acetilação do DNA e histonas, correlacionam-se com a conformação da cromatina, permitindo que determinados genes sejam expressos ou silenciados.

Os padrões de marcações epigenéticas nos genomas parecem envolver fenômenos integrados de sistemas de regulação para que possam ser estabelecidos e mantidos da gametogênese à vida adulta, mesmo apesar do epigenoma mostrar-se extremamente susceptível a distúrbios promovidos pelo ambiente podendo ser alterado em qualquer momento da vida do indivíduo. Assim, tem se verificado que perturbações epigenéticas podem ser observadas em uma ampla variedade de patologias, como no câncer, e em uma série de síndromes de ordem neurológica ou de prejuízo no desenvolvimento motor. Entretanto, apesar de começar a se esclarecer a participação dos fenômenos epigenéticos na gênese de inúmeras doenças, pouco ainda é compreendido sobre como esses fenômenos são regulados, mas possivelmente isso envolva interações com outros sistemas de regulação gênica e constituem uma ampla e complexa rede de regulação atuando coordenadamente nos eucariotos.

Desse modo, tendo em vista todos esses eventos e a evidente participação da epigenética no desenvolvimento de diversas patologias, busca-se atualmente, por meio da terapia epigenética, o desenvolvimento de medicamentos capazes de

restabelecer ou promover uma reprogramação das marcações epigenéticas padrões. Assim, uma maior compreensão desse universo da epigenética associada com suas implicações aos estados fisiológicos normais e patológicos, mostra-se como uma grande promessa nessa era molecular, para o desenvolvimento de ferramentas profiláticas, diagnósticas e terapêuticas de uma ampla variedade de doenças.

Referências

- APARICIO, A.; NORTE, B.; BARSKE, L.; WANG, X.; BOLLATI, V.; WEISENBERGER D.; YOO, C.; TANNIR, N.; HORNE, E.; GROSHEN, S.; JONES, P.; YANG, A.; ISSA, J. P. LINE-1 methylation in plasma DNA as a biomarker of activity of DNA methylation inhibitors in patients with solid tumors. *Epigenetics*, v. 4, n. 3, p. 176-184, 2009.
- ATTWOOD, J. T.; YUNG, R. L.; RICHARDSON, B. C. DNA methylation and the regulation of gene transcription. *Cellular and Molecular Life Sciences*, Basel, v. 59, p. 241-257, 2002.
- AUSIÓ, J.; LEVIN, D. B.; DE AMORIM, G. V.; BAKKER, S.; MACLEOD, P. M. Syndromes of disordered chromatin remodeling. *Clinical Genetics*, Copenhagen, v. 64, p. 83-95, 2003.
- BAI, A. H.; TONG, J. H.; KF, A.; CHAN, M. W.; MAN, E. P., LO, K. W.; LEE, J. F.; SUNG, J. J.; LEUNG, W. K. Promoter hypermethylation of tumor-related genes in the progression of colorectal neoplasia. *International Journal of Cancer*, Genève, v. 112, p. 846-853, 2004.
- BAYLIN, S. B.; HERMAN, J. G. DNA hypermethylation in tumorigenesis epigenetics joins genetics. *Trends in Genetics: TIG*, Amsterdam, v. 16, p. 168-174, 2000.
- BIRD, A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development*, New

York, v. 16, p. 6-21, 2002.

BUITING, K.; GROSS, S.; LICH, C.; GILLESSEN-KAESBACH, G.; EL-MAARRI, O.; HORSTHEMKE, B. Epimutations in Prader-Willi and angelman syndromes: a molecular study of 136 patients with an imprinting defect. *American Journal of Human Genetics*, Chicago, v. 72, p. 571-577, 2003.

BURZYNSKI, S. R. Aging: gene silencing or gene activation? *Medical Hypotheses*, Penrith, v. 64, p. 201-208, 2005.

CAIAFA, P.; ZAMPIERI, M. DNA methylation and chromatin structure: the puzzling CpG islands. *Journal of Cellular Biochemistry*, New York, v. 94, p. 257-265, 2005.

CHALITCHAGORN, K.; SHUANGSHOTI, S.; HOURPAI, N.; KONGRUTTANACHOK, N.; TANGKIJVANICH, P.; THONG-NGAM, D.; VORAVUD, N.; SRIURANPONG, V.; MUTIRANGURA, A. Distinctive pattern of LINE-1 methylation level in normal tissues and the association with carcinogenesis. *Oncogene*, Basingstoke, v. 23, p. 8841-8846, 2004.

CURLEY, J. P.; BARTON, S.; SURANI, A.; KEVERNE, E. B. Coadaptation in mother and infant regulated by a paternally expressed imprinted gene. *Proceedings Biological Sciences*, London, v. 271, p. 1303-1309, 2004.

DAVIES, W.; ILHAS, A. R.; WILKINSON, L. S. Imprinted genes and mental dysfunction. *Annals of Medicine*, London, v. 33, n. 6, p. 428-436, 2001.

DONG, S. M.; KIM, H. S.; RHA, S.H.; SIDRANSKY, D. Promoter hypermethylation of multiple genes in carcinoma of the uterine cervix. *Clinical Cancer Research*, Denville, v. 7, p. 1982-1986, 2001.

EGGER, G.; LIANG, G.; APARICIO, A.; JONES, P. A. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, London, v. 429, p. 457-463, 2004.

FAN, H.; ZHAO, Z.J.; CHENG, J.; SU, X.W.; WU, Q. X.; SHAN, Y. F. Overexpression of DNA methyltransferase 1 and its biological significance in primary hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, Beijing, v. 15, n. 16, p. 2020-2026, 2009.

FEINBERG, A. P.; TYCKO, B. The history of cancer epigenetics. *Nature Reviews: Cancer*, London, v. 4, p. 143 -153, 2004.

FLÖRL, A. R.; STEINHOFF, C.; MÜLLER, M.; SEIFERT, H. H.; HADER, C.; ENGERS, R.; ACKERMANN, R.; SCHULZ, W. A. Coordinate hypermethylation at specific genes in prostate carcinoma precedes LINE-1 hypomethylation. *British Journal of Cancer*, London, v. 91, p. 985-994, 2004.

FRAGA, M. F.; BALLESTAR, E.; PAZ, M. F.; ROPERO, S.; SETIEN, F.; BALLESTAR, M. L.; HEINE-SUÑER, D.; CIGUDOSA, J. C.; URIOSTE, M.; BENITEZ, J.; BOIX-CHORNET, M.; SANCHEZ-AGUILERA, A.; LING, C.; CARLSSON, E.; POULSEN, P.; UM, V.; STEPHAN, Z.; SPECTOR, T. D.; WU, Y. Z.; PLASS, C.; ESTELLER, M. Epigenetics differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 102, p. 10604-10609, 2005.

FRIGOLA, J.; SOLÉ, X.; PAZ, M. F.; MORENO, V.; ESTELLER, M.; CAPELLÀ, G.; PEINADO, M. A. Differential DNA hypermethylation and hypomethylation signatures in colorectal cancer. *Human Molecular Genetics*, Oxford, v. 14, p. 319-326, 2005.

GALUSCA, B.; DUMOLLARD, J. M.; LASSANDRE, S.; NIVELEAU, A.; PRADES, J. M.; ESTOUR, B.; PEOC'H, M. Global DNA methylation evaluation: potential complementary marker in differential diagnosis thyroid neoplasia. *Virchows Archiv: an International Journal of Pathology*, Berlin, v. 447, p. 18-23, 2005.

- GIBBS, W. W. Além do DNA. *Scientific American Brasil*, São Paulo, n. 16, Edição Especial, Genoma: o código da vida, p. 44-51, 2007.
- HERMAN, J. G.; BAYLIN, S. B. Gene silencing in cancer is association with promoter hypermethylation. *The New England Journal of Medicine: Research & Review Art*, Waltham, v. 349, p. 2042-2054, 2003.
- HONG, S. H.; KIM, H. G.; CHUNG, W. B.; KIM, E.Y.; JY, L.; YOON, S. M.; KWON, J. G.; SOHN, Y. K.; KWAK, E. K.; KIM, J. W. DNA hypermethylation of tumor-related genes in gastric carcinoma. *Journal of Korean Medical Science*, Seoul, v. 20, p. 236-241, 2005.
- HOWELL, P. M. JR, LIU, S.; REN, S.; BEHLEN, C.; FODSTAD, O.; RIKER, A. I. Epigenetics in human melanoma. *Cancer Control: Journal of the Moffitt Cancer Center*, Tampa, v. 16, n. 6, p. 200-218, 2009.
- ISLES, A. R.; DAVIES, W.; WILKINSON, L. S. Genomic imprinting and the social brain. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Series B, Biological Sciences*, London, v. 361, p. 2229-2237, 2006.
- ISSA, J. P. CpG-island methylation in aging and cancer. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, Berlin, v. 249, p. 101-118, 2000.
- JAENISCH, R.; BIRD, A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals? *Nature Genetics*, New York, v. 33, p. 254-264, 2003.
- JERÓNIMO, C.; HENRIQUE, R.; HOQUE, M. O.; MAMBO, E.; RIBEIRO, F. R.; VARZIM, G.; OLIVEIRA, J.; TEIXEIRA, M. R.; LOPES, C.; SIDRANSKY, D. A quantitative promoter methylation profile of prostate cancer. *Clinical Cancer Research*, Denville, v. 10, p. 8472-8478, 2004.
- JIANG, Y. H.; BRESSLER, J.; BEAUDET, A. L. Epigenetics and human disease. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, Palo Alto, v. 5, p. 479-510, 2004.
- JIRTLE, R. L.; SKINNER, M. K. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nature Reviews Genetics*, London, v. 8, p. 253-262, 2007.
- JIRTLE, R. L.; WEIDMAN, J. R. Imprinting and more equal. *American Scientist*, New Haven, v. 95, p. 142-149, 2007.
- JONES, P. A.; TAKAI, D. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics. *Science*, Stanford, v. 293, p. 1068-1070, 2001.
- KIEFER, J. C. Epigenetics in development. *Developmental Dynamics*, New York, v. 236, p. 1144-1156, 2007.
- KILGORE, J. A.; HOOSE, S. A.; GUSTAFSON, T. L.; PORTER, W.; KLADDE, M. P. Single-molecule and population probing of chromatin structure using DNA methyltransferases. *Methods*, Bethesda, v. 41, n.3, p. 320-332, 2007.
- KILLIAN, J. K.; BYRD, J. C.; JIRTLE, J. V.; MUNDAY, B. L.; STOSKOPF, M. K.; MACDONALD, R. G.; JIRTLE, R. L. M6P/IGF2R imprinting evolution in mammals. *Molecular cell*, Cambridge, v. 5, p. 707-716, 2000.
- KLOSE, R. J.; BIRD, A. P. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends in Biochemical Sciences*, Amsterdam, v. 31, p. 89-97, 2006.
- LI, E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nature Reviews:Genetics*, London, v. 3, p. 662-673, 2002.
- LI, S.; RONG, M.; IACOPETTA, B. DNA hypermethylation in breast cancer and its association with clinopathological features. *Cancer Letters*, Amsterdam, v. 237, p. 272-280, 2006.
- LIDDLE, R. A.; JIRTLE, R. L. Epigenetic silencing of genes in human colon cancer. *Gastroenterology*, Philadelphia, v. 131, p. 960-962, 2006.

- LU, Q.; QIU, X.; HU, N.; WEN, H.; SU, Y.; RICHARDSON, B. C. Epigenetics, disease, and therapeutic interventions. *Ageing Research Reviews*, Oxford, v. 5, p. 449-467, 2006.
- LUCZAK, M. W.; JAGODZINSKI, P. P. The role of DNA methylation in cancer development. *Folia histochemica et cytobiologica*, Warszawa, v. 44, p. 143-154, 2006.
- LUND, A. H.; LOHUIZEN, V. Epigenetics and cancer. *Genes & Development*, New York, v. 18, p. 2315-2335, 2004.
- MARQUES, C. J. Genomic imprinting in disruptive spermatogenesis. *Lancet*, London, v. 363, p. 1700-1702, 2004.
- MELKI, J. R.; VINCENT, P. C.; BROWN, R. D.; CLARK, S. J. Hypermethylation of E-cadherin in leukemia. *Blood: The Journal of Hematology*, New York, v. 95, p. 3208-3213, 2000.
- MOSS, T. J.; WALLRATH, L. L. Connections between epigenetic gene silencing and human disease. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 618, p. 163-174, 2007.
- MURPHY, S. K.; JIRTLE, R. L. Imprinting evolution and the price of silence. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, Cambridge, v. 25, p. 577-588, 2003.
- REIK, W.; WALTER, J. Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nature Reviews: Genetics*, London, v. 2, p. 21-32, 2001.
- RICHARDS, E. J. Inherited epigenetic variation: revisiting soft inheritance. *Nature Reviews: Genetics*, London, v. 7, p. 395-401, 2006.
- RODENHISER, D.; MANN, M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal*, Ottawa, v. 174, p. 341-248, 2006.
- STRAHL, B. D.; ALLIS, C. D. The language of covalent histone modifications. *Nature*, v. 403, p. 41-45, 2000.
- SULEWSKA, A.; NIKLINSKA, W.; KOZLOWSKI, M.; MINAROWSKI, L.; NAUMNIK, W.; NIKLINSKI, J.; DABROWSKA, K.; CHYCZEWSKI, L. DNA methylation in states of cell physiology and pathology. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, Warszawa, v. 45, p. 149-158, 2007.
- SUZUKI, S.; ONO, R.; NARITA, T.; PASK, A. J.; SHAW, G.; WANG, C.; KOHDA, T.; ALSOP, A. E.; MARSHALL GRAVES, J. A.; KOHARA, Y.; ISHINO, F.; RENFREE, M. B.; KANEKO, I.-T. Retrotransposon silencing by DNA methylation can drive mammalian genomic imprinting. *Plos Genetics*, San Francisco, v. 3, p. 531-537, 2007.
- SZYF, M.; PAKNESHAN, P.; RABBANI, S. A. DNA methylation and breast cancer. *Biochemistry & Pharmacology*, Los Angelis, v. 68, p. 1187-1197, 2004.
- TALBERT, P. B.; HENIKOFF, S. Spreading of silent chromatin: inaction at a distance. *Nature Reviews: Genetics*, London, v. 7, p. 793-803, 2006.
- WAGGONER, D. Mechanisms of disease: epigenesis. *Seminars in Pediatric Neurology*, Philadelphia, v. 14, p. 7-14, 2007.
- WATERLAND, R. A.; LIN, J.R.; SMITH, C. A.; JIRTLE, R. L. Post-weaning diet affects genomic imprinting at the insulin-like growth factor 2 (Igf2) locus. *Human Molecular Genetics*, Oxford, v. 15, p. 875-884, 2006.
- WEIDMAN, J. R.; DOLINOY, D. C.; MURPHY, S. K.; JIRTLE, R. L. Cancer susceptibility: epigenetic manifestation of environmental exposures. *The Cancer Journal*, Philadelphia, v. 13, n.1, p. 9-16, 2007.
- WILSON, A. S.; POWER, B. E.; MOLLOY, P. L. DNA hypomethylation and human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v. 1775, n. 1, p. 138-162, 2007.
- ZILBERMAN, D. Genome-wide analysis of

Arabidopsis thaliana DNA methylation uncovers an interdependence between methylation and transcription. *Nature Reviews:Genetics*, London, v. 39, p. 61-69, 2007.

Recebido em: 13 de maio de 2010
Aceito em: 17 de outubro de 2013