

EPIGENÉTICA APLICADA À SAÚDE E À DOENÇA

PRINCÍPIOS FUNDAMENTAIS
BASEADOS EM EVIDÊNCIAS ATUAIS



 Centro Universitário
METODISTA
IPA
EDITORA UNIVERSITÁRIA METODISTA IPA

ORGANIZADORAS
Viviane Rostirola Elsner
Ionara Rodrigues Siqueira



Centro Universitário

METODISTA

IPA

IPA – INSTITUTO PORTO ALEGRE
DA IGREJA METODISTA

DIRETOR GERAL

Robson Ramos de Aguiar

CONSAD – Conselho Superior de Administração

Paulo Borges Campos Jr. (Presidente), Aires Ademir Leal Clavel (Vice-Presidente), Esther Lopes (Secretária). **Titulares:** Afranio Gonçalves Castro, Augusto Campos de Rezende, Jonas Adolfo Sala, Marcos Gomes Tôrres, Oscar Francisco Alves Jr., Valdecir Barreros

Suplentes: Renato Wanderley de Souza Lima

Reitora

Anelise Coelho Nunes

Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação Stricto Sensu

Edgar Zanini Timm

CONSELHO EDITORIAL

Anelise Coelho Nunes (Presidente)

Edgar Zanini Timm (Vice-Presidente)

Alessandra Peres

Caroline Dani

Jose Clovis de Azevedo

Maristela Padilha

Marlis Morosini Polidori

Ágata Cristina Silveira Pamplona (Assistente Editorial)

Rodrigo Ramos Sathler Rosa (Editor Executivo)

EDITORA UNIVERSITÁRIA METODISTA IPA

Rua Cel. Joaquim Pedro Salgado, 80

Prédio A – Sala A001 – Rio Branco

Porto Alegre/RS CEP: 90420-060

Tel.: (51) 3316-1249

VIVIANE ROSTIROLA ELSNER
IONARA RODRIGUES SIQUEIRA
Organizadoras

**EPIGENÉTICA APLICADA
À SAÚDE E À DOENÇA:
PRINCÍPIOS FUNDAMENTAIS
BASEADOS EM EVIDÊNCIAS ATUAIS**

EDITORA UNIVERSITÁRIA METODISTA

Porto Alegre
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Epigenética aplicada à saúde e a doença: princípios fundamentais baseados em evidências atuais / organizado por Viviane Rostirola Elsner e Ionara Rodrigues Siqueira – Porto Alegre: Editora Universitária Metodista IPA, 2016.
136 p. : il.

ISBN: 978-85-99738-48-1

1. Gene. 2. Alteração. 3. Epigenética. 4. Consequência.
I. Elsner, Viviane Rostirola (Org.). II. Siqueira, Ionara Rodrigues (Org.)

CDD 575.1
CDU 575

Bibliotecária responsável:
Ana Paula R. Gomes Goulart CRB 10/1736

AFILIADA À

Associação Brasileira
das Editoras Universitárias



**EDUCAÇÃO
METODISTA**

Editora Metodista

Rua do Sacramento, 230, Rudge Ramos
09640-000, São Bernardo do Campo, SP

Tel: (11) 4366-5537

E-mail: editora@metodista.br

www.metodista.br/editora

ARTE: Capa e desenhos Ana Kelly Vogt Kommers

CAPA: CRISTIANO FREITAS

EDITORAÇÃO ELETRÔNICA: MARIA ZÉLIA FIRMINO DE SÁ

REVISORA: MAGDA GEORGIA DA SILVA

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	7
APRESENTAÇÃO	9
PREFÁCIO	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	13
1. INTRODUÇÃO À EPIGENÉTICA: CONCEITOS BÁSICOS	17
Ionara Rodrigues Siqueira.....	
Viviane Rostirola Elsner	
2. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NA NUTRIÇÃO	29
Roberta Passos Palazzo	
Ionara Rodrigues Siqueira	
3. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NA OBESIDADE HUMANA	43
Gilson Dorneles	
Alessandra Peres	
4. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NAS DOENÇAS RESPIRATÓRIAS	59
Ivy Reichert Vital da Silva	
Gustavo Pereira Reinaldo	
Viviane Rostirola Elsner	
5. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NAS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS	71
Karine Bertoldi	
Ionara Siqueira	
6. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NO AUTISMO	83
Ionara Rodrigues Siqueira	
Alysson Muotri	

7. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NA ESQUIZOFRENIA	91
Caroline Dallazen Lavratti	
Luciane Wagner	
Viviane Rostirola Elsner	
8. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NAS FUNÇÕES COGNITIVAS	101
Laura Reck Cechinel	
Ionara Rodrigues Siqueira	
9. EXERCÍCIO E MODULAÇÃO EPIGENÉTICA: ESTUDOS EXPERIMENTAIS	113
Viviane Rostirola Elsner	
Ionara Rodrigues Siqueira	
10. EXERCÍCIO E MODULAÇÃO EPIGENÉTICA: ESTUDOS CLÍNICOS	123
Anelise Ineu Figueiredo	
João José Cunha da Silva	
Viviane Rostirola Elsner	
Maristela Padilha de Souza	
SOBRE OS AUTORES	133

DEDICATÓRIA

Inicialmente às nossas famílias pelo amor incondicional e incentivo na busca de nossos sonhos.

Aos nossos alunos, orientandos e egressos dos laboratórios, por acreditarem na importância da pesquisa na área da epigenética. Que o entusiasmo pela epigenética continue com um padrão transgeracional* nos nossos grupos de pesquisa.

Também dedicamos ao prof. Eric Nestler; um dos seus relevantes trabalhos mostrando os efeitos epigenéticos do estresse e do tratamento antidepressivo foi a inspiração para os trabalhos com exercício físico.

* A profa. Viviane Elsner é egressa do laboratório da profa. Ionara Siqueira

APRESENTAÇÃO

Vários mistérios da natureza, como as diferenças entre gêmeos idênticos especialmente na vida adulta, são descobertos e explicados conforme o conhecimento científico e as novas tecnologias associadas.

Um clássico exemplo é o do Inverno da Fome na Holanda (1944-1945). A análise de registros do excelente sistema de saúde holandês, por volta de 1975, demonstrou que mulheres subnutridas no início da gestação geraram crianças com maior probabilidade de obesidade. Os epidemiologistas também verificaram o efeito sobre os netos dessas mulheres que sofreram intensa restrição de alimentos, evidenciando a questão da herdabilidade de características relacionadas a experiências e ao ambiente. Esses dados levantaram a hipótese de que a dieta materna impacta sobre a saúde das próximas gerações e despertaram o interesse da comunidade científica, que reproduziu essas condições em laboratório. Os pesquisadores sugerem que o organismo da prole fica programado para estocar energia e, assim, suportar períodos de fome; contudo, quando essas crianças são expostas à comida suficiente tornam-se indivíduos obesos. Essa “programação”, durante a gestação, parece estar relacionada com mecanismos epigenéticos. O termo epigenética, onde “epi” (do grego) significa “acima ou sobre” dos genes, foi introduzido por Conrad Waddington como “um campo da biologia que estuda as interações causais entre genes e seus produtos que são responsáveis pela produção do fenótipo”. Essas modificações podem silenciar ou ativar a expressão de determinados genes sem modificar o código genético. Como

exemplificado pelo prof. Alysson Muotri, “penduricalhos químicos” são adicionados ou retirados da cromatina e os níveis desses “penduricalhos”, como grupos metil no DNA, estão relacionados com a obesidade. Assim, podemos perceber que a epigenética é uma interface entre o ambiente e o código genético.

Uma intrigante questão relacionada à epigenética é a diferenciação tecidual, por exemplo, células com funções e características diferentes apresentam o mesmo código genético, mas genes, que estão ativos num tipo celular, poderão estar silenciados em outros tipos celulares. Com isso, um hepatócito, ao se dividir, originará dois hepatócitos com o mesmo perfil de genes ativos (hepatócitos herdam as mesmas marcas epigenéticas). Ainda, alterações epigenéticas estão relacionadas à fisiopatologia de algumas doenças, levando à expressão aberrante ou o silenciamento de genes.

Este livro pretende introduzir a temática da epigenética para todos os curiosos e interessados. Os capítulos abordarão a influência e a relação de aspectos como a nutrição, o exercício, a obesidade, doenças respiratórias, neurodegenerativas e neuropsiquiátricas na modulação do epigenoma. A proposta do livro é ser um instrumento para o leitor compreender esse campo fascinante da ciência.

PREFÁCIO

Em pouco mais de uma década, as ciências biomédicas testemunharam o desenvolvimento de uma instigante área de pesquisa: a epigenética. Definida como o estudo da variação de traços fenotípicos pela ação de fatores externos ou ambientais que afetam a expressão gênica de modo reversível, a epigenética vem contribuindo para o entendimento de patologias complexas.

Ao descrever alterações dinâmicas no potencial de transcrição de célula, geralmente por modificação de histonas ou metilação do DNA, a epigenética oferece mecanismos capazes de explicar, ao menos parcialmente, como o ambiente e os hábitos são capazes de favorecer, ou retardar, a expressão fenotípica de traços genéticos.

Com linguagem clara, direta e acessível, os autores de **Epi-genética Aplicada à Saúde e à Doença: princípios fundamentais baseados em evidências atuais** apresentam uma boa introdução à epigenética e descrevem avanços em áreas que abrangem efeitos da dieta e do exercício, bem como evidências de fenômenos epigenéticos em patologias respiratórias, neurodegenerativas, transtornos mentais e obesidade. Ao definir alguns marcadores epigenéticos, de natureza reversível, estudos recentes deixam antever possibilidades de intervenção terapêutica sobre doenças degenerativas crônicas, doenças associadas ao envelhecimento e até o câncer.

Ao demonstrar o protagonismo da dieta e das escolhas nutricionais, dos hábitos de vida e do exercício sobre a qualidade de vida e a prevenção de doenças, bem como a influência do cuidado

materno e do estresse infantil sobre as próximas gerações, a epigenética permite antever seu grande potencial de desenvolvimento científico e de novas ferramentas terapêuticas.

Boa leitura!

Carlos Alexandre Netto
Professor Titular do Departamento
de Bioquímica – UFRGS
Reitor da UFRGS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-Aza	5-Azacitidina
5hmC	5-Hidroximetilcitosina
ADAM	Proteína Desintegrina e Metaloproteinase
ADIPOQ	<i>Adiponectin, C1Q And Collagen Domain Containing</i>
AdipoR1	Receptor da adiponectina 1
AdipoR2	Receptor da adiponectina 2
Ago2	Argonauta
AIR	<i>Antisense IGF-2R RNA</i>
AMP	Adenosina monofosfato
APP	Proteína precursora de amiloide
Arc	<i>Activity-regulated cytoskeletal</i>
ASC	Proteína puntiforme associada à apoptose
ASD	Desordens do Espectro Autista
ATP10A	<i>ATPase, Class V, Type 10A</i>
A β	Peptídeo Beta amiloide
BACE	β secretase
BDKRB2	Receptor de bradicinina B2
BDNF	Fator neurotrófico derivado do encéfalo
BRCA1	<i>Breast cancer 1</i>
CaMKII	Proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina
cAMP	Monofosfato cíclico de adenosina
CASP8	Caspase 8
CAV1	Caveolina 1
CBP	Proteína ligante de CREB
CDKN1A	Inibidor de quinase dependente de ciclina 1A
COMT	Catechol-O-metiltransferase
CpG	Citosina fosfato guanina
CREB	Proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc
DA	Doença de Alzheimer
DGCR8	<i>DiGeorge Syndrome Critical Region 8 protein</i>
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNMT	DNA metiltransferase
DNMT1	DNA metiltransferase 1
DNMT3	DNA metiltransferase 3
DNMT3A	DNA metiltransferase 3A
DNMT3B	DNA metiltransferase 3B
DP	Doença de Parkinson
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
EC	Epicatequina

ECG	Epicatequina-3-galato
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EGC	Epigalocatequina
EGCG	Epigalocatequina 3-galato
ERK	Proteína quinase regulada por sinal extracelular
F2RL3	Fator de coagulação II (trombina) receptor-like 3
FABP4	Proteína de ligação de ácidos graxos 4
FASN	Ácido graxo sintase
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
G9a	Histona metiltransferase da H3K9
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GAD1	Glutamato descarboxilase 1
GAD67	Glutamato descarboxilase 67
GATA4	Guanina-adenina-timina-adenina 4
GLUD1	Glutamato desidrogenase 1
GLUT	Transportador de glicose
GTL-2	<i>Gene-trap locus 2</i>
GPR15	Receptor 15 acoplado à proteína G
GR	Glicocorticoide
H2bK5	Histona 2b lisina 5
H3	Histona 3
H3K4	Histona 3 lisina 4
H3K9	Histona 3 lisina 9
H3K14	Histona 3 lisina 14
H3K36me3	Trimetilação da histona 3 lisina 36
H3K4me3	Trimetilação da histona 3 lisina 4
H3K9me2	Dimetilação da histona 3 lisina 9
H3S10	Histona 3 serina 10
H4	Histona 4
H4K5	Histona 4 lisina 5
H4K8	Histona 4 lisina 8
H4K12	Histona 4 lisina 12
HADHB	Hidroxiacil-coa desidrogenase
HAT	Histona acetiltransferase
HDAC	Histona deacetilase
HDAC1	Histona deacetilase 1
HDAC2	Histona deacetilase 2
HDAC4	Histona deacetilase 4
HDAC6	Histona deacetilase 6
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HHEX	<i>Hematopoietically expressed homeobox</i>
HDM	Histona desmetilase
HMT	Histona metiltransferase
HSD11B2	Hidroxisteroide (11-Beta) Desidrogenase 2
IFN- γ	Interferon-gama
IGF-2	Fator de crescimento semelhante à insulina-2
IGF-2R	Fator de crescimento semelhante à insulina-2 receptor
IGF2BP2	<i>Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2</i>

IGFBP3	Fator de crescimento semelhante à insulina proteína de ligação-3
iHDAC	Inibidor da histona desacetilase
IL-10	Interleucina10
IL-8	Interleucina 8
INS-IGF2	Gene da proteína insulina isoforma 2
INS	Gene da insulina
INSR	Gene do receptor de insulina
IRAK3	Proteína cinase associada ao receptor de interleucina 3
IRS-1	Substrato 1 do receptor de insulina
JAZF1	<i>Juxtaposed with another zinc finger protein 1</i>
L3MBTL	<i>Lethal (3) malignant brain tumor-like protein</i>
LPL	Lipase lipoproteica
LTM	<i>Long-term memory</i> (Memória de longo prazo)
LTP	Potenciação de longa duração
MAPK	Proteína quinase ativado por mitógenos
MAPT	Microtúbulo associado à proteína tau
MeCP2	Proteína 2 de ligação a metil-CpG
MEF2A	<i>Myocyte Enhancer Factor 2A</i>
MIF	Fator de Inibição da Migração de Macrófagos
miRNA	MicroRNA
MLL	
(1,2,3)	Histona metiltransferase da H3K4
MSK1	Proteína quinase ativado por <i>stress</i>
MSX1	<i>Msh homeobox 1</i>
MYHC	Cadeia contrátil de miosina
NaBut	Butirato de sódio
NDUFB6	<i>NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 6</i>
NDUFC2	<i>NADH Dehydrogenase (Ubiquinone) 1, Subcomplex Unknown, 2</i>
NEP	Neprilisina
NF-kB	Fator de transcrição nuclear kappa-B
NGF-1	Fator de crescimento do nervo 1
NK	<i>Natural killers</i>
NMDA	N-metil D-Aspartato
OMS	Organização Mundial de Saúde
OXTR	Gene Receptor da Ocitocina
PBA	Fenilbutirato
PBMC	Célula mononuclear de sangue periférico
PKD4	Piruvato desidrogenase kinase-4
PGC-1α	Coativador 1 de receptores ativados por proliferadores de peroxissomos
PIK3CG	Isoforma da subunidade catalítica gama fosfatidilinositol-4,5bifosfato-3 kinase
PPARG	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama
PPARG5	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama 5
PPARGC1	Coativador do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama 1
PPM1E	Proteína fosfatase, Mg ²⁺ / Mn ²⁺ dependente 1E

PS1	Presenilina 1
PSEN1	Gene da Presenilina 1
PSEN2	Gene da Presenilina 2
PTEN	Fosfatase homóloga à tensina
RARA	Receptor alfa do ácido retinóico
RELN	Gene da relina
RISC	<i>RNA-Induced Silencing Complex</i>
RNA	Ácido ribonucleico
RNAm	RNA mensageiro
RUNX1	<i>Runt-related transcription factor 1</i>
RYR1	Receptor 1 de rianodina
SAH	S-adenosil-L-homocisteína
SAHA	Ácido hidroxâmicosuberoilânilida
SAM	S-adenosilmetionina
SAMP8	Camundongos PRONE8 com envelhecimento acelerado
SFN	Sulforafano
SIRT1	Sirtuína 1
SIRT2	Sirtuína 2
SNC	Sistema nervoso central
SNCA	Gene da sinucleína alfa
STM	<i>Short-term memory</i> (Memória de curto prazo)
TACE	Enzima conversora do fator de necrose tumoral alfa
TCF7L2	<i>Transcription factor 7-like 2</i>
TEA	Transtornos do Espectro do Autismo
TET	Metilcitosina desoxigenase
TET1	Metilcitosina desoxigenase 1
TFAM	Fator de transcrição mitocondrial A
TGF-β	Fator de transformação do crescimento-beta
THADA	<i>Thyreoid adenoma-associated</i>
TNF-α	Fator de necrose tumoral-alfa
TOMM70A	Translocase de membrana mitocondrial externa 40 homólogo
TSA	Tricostatina A
TUBA3C	Alfa tubulina-3C
UBE3A	E3A ligase de ubiquitina-proteína
UTR	Região não traduzida
VPA	Ácido valproico
WT1	<i>Wilms tumor 1</i>
Xist	<i>X-inactive specific transcript</i>
Zeb	Zebularina
Zif268	Nuclease dedo de zinco 268
VO₂máx	Consumo máximo de oxigênio

1. INTRODUÇÃO À EPIGENÉTICA: CONCEITOS BÁSICOS

Ionara Rodrigues Siqueira
Viviane Rostirola Elsner

A epigenética, termo que significa “acima do genoma”, consiste no estudo das alterações na expressão de genes específicos que independem de mudanças na sequência primária do ácido desoxirribonucleico (DNA), mas que envolvem modificações estruturais na cromatina decorrentes da interação do indivíduo com o ambiente¹.

A estrutura da cromatina consiste na dupla fita de DNA em espiral que se enrola em torno de um octâmero proteico formado por quatro pares de histonas: H2A, H2B, H3 e H4, conforme observado na Figura 1^{2,3}. Assim, os mecanismos epigenéticos englobam modificações tanto na molécula de DNA quanto nas histonas.

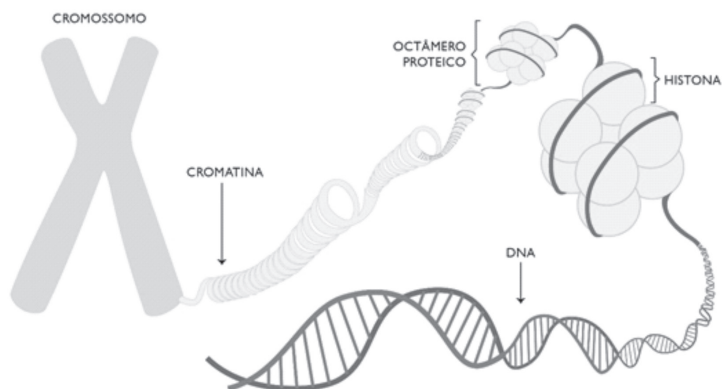


Figura 1. Desenho esquemático da cromatina, formado pelo octâmero proteico (4 pares de histonas) envolto pela molécula de DNA.

Arte: Ana Kelly Vogt Kommers

1.1 MODIFICAÇÕES EPIGENÉTICAS EM DNA

O DNA é suscetível a uma única modificação: a metilação, reação catalisada por enzimas denominadas DNA metiltransferases (DNMTs). A metilação ocorre preferencialmente nas chamadas ilhas citosina fosfato guanina (CpG), regiões do DNA com grande número de resíduos de Citosina e Guanina adjacentes localizados na região promotora de vários genes, conforme ilustrado na Figura 2, e está associada à repressão gênica^{4, 5}.

As DNMTs transferem o grupo metil da molécula doadora S-adenosilmetionina (SAM) para a posição 5' do anel piramidal da citosina, formando 5-metil desoxicitidina e S-adenosil homocisteína (SAH)⁵. Há duas famílias de DNMTs: as DNMTs de manutenção, responsáveis por manter os padrões de metilação durante o processo de replicação celular, incluindo DNMT1, que utiliza como substrato DNA hemimetilado, e as DNMTs com função de metilação propriamente dita dos genes (mecanismo denominado como “de novo metilação”), as DNMT3A e DNMT3B, as quais estão envolvidas na transferência de grupos metil para sítios previamente não metilados^{5, 6}.

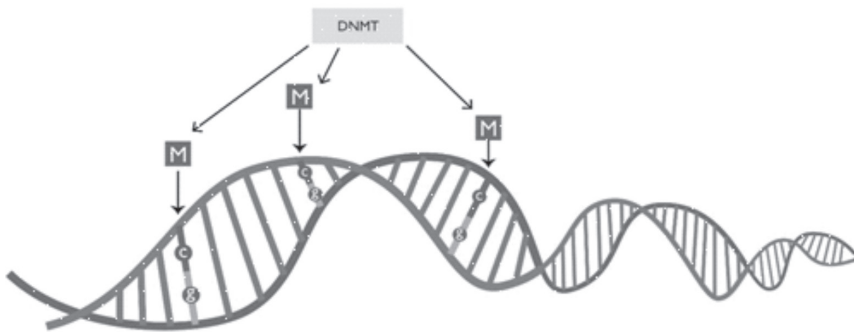


Figura 2. Desenho esquemático da metilação de DNA, que ocorre pelas enzimas DNMTs, preferencialmente nas ilhas CpG.

Arte: Ana Kelly Vogt Kommers

Uma das propostas para explicar os possíveis mecanismos envolvidos com a repressão gênica mediada pela metilação do

DNA seria através da diminuição direta da transcrição por meio do bloqueio dos fatores de transcrição aos seus sítios de ligação⁷, além do papel das proteínas ligadoras de metil-CpG, que reconhecem e se ligam ao DNA metilado. Destas, a mais conhecida é a MECP2 (Proteína 2 de ligação a metil-CpG)⁸.

Os processos de desmetilação ativos envolvem mecanismos de reparo por excisão de nucleotídeos e de bases⁹ e também por um complexo sistema enzimático, no qual a desmetilação do DNA é iniciada pela oxidação do 5-mC em 5-hidroximetilcitosina (5-hmC) por proteínas metilcitosina desoxigenase (TET)^{10, 11}, está sendo elucidado. A 5-hmC é geralmente associada a uma maior atividade gênica, entretanto Jin et al. (2011)¹² descreveram que o conteúdo e a localização no gene alteram o papel sobre a transcrição. A 5-hmC está presente em vários tipos celulares, com altos níveis no encéfalo¹³, especialmente nas células de Purkinje cerebelares¹⁴. As enzimas TET podem transformar 5-hmC em 5-formilcitosina e 5-fC a em 5-carboxilcitosina¹⁰.

1.2 MODIFICAÇÕES EPIGENÉTICAS EM HISTONAS

As histonas podem sofrer diversas modificações em sua cauda N-terminal, incluindo acetilação, fosforilação, metilação e ubiquitinação (Figura 3). Uma vez que as histonas são modificadas, podem remodelar a cromatina tornando-a mais ou menos compacta, o que influencia no processo de transcrição gênica e que tem sido reconhecido como “o código das histonas”^{2, 3}. As modificações ocorrem em sítios específicos, por exemplo, lisina 9 na histona 3 (H3K9).

Dentre essas alterações, a acetilação e a metilação de histonas têm recebido destaque. O estado dinâmico de acetilação e desacetilação de histonas é regulado por dois grupos de enzimas: as histonas acetiltransferases (HAT) e as histonas desacetilases (HDAC), respectivamente. A HAT catalisa a adição do grupo acetil da molécula doadora acetil-coenzima A (acetil-CoA) e as lisinas (K)

na cauda N-terminal das histonas, o que neutraliza a carga positiva das extremidades dessas proteínas, enfraquecendo as interações eletrostáticas com o DNA, carregado negativamente. Tal processo causa, em geral, o relaxamento da estrutura da cromatina, facilitando a ação de fatores transcricionais. Como consequência, há o aumento da transcrição e expressão de genes específicos^{15, 16}.

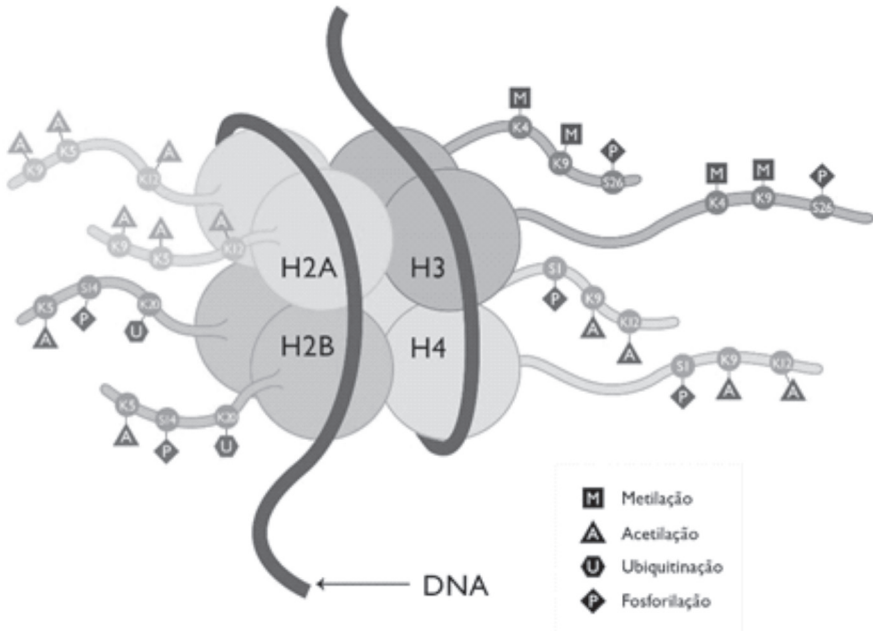


Figura 3. Desenho esquemático de possíveis alterações epigenéticas em histonas: metilação, acetilação, ubiquitinação e fosforilação.
Arte: Ana Kelly Vogt Kommers

Por outro lado, as HDACs promovem a desacetilação das histonas, ligando-se fortemente ao DNA, tornando a estrutura da cromatina mais compacta, contribuindo para o silenciamento gênico. Assim, o sistema HAT/HDAC desempenha um papel chave na modificação da estrutura da cromatina, o que está diretamente relacionado ao controle do processo transcricional e à expressão gênica^{2, 17}. O processo de acetilação e desacetilação de histonas encontra-se esquematizado na Figura 4.

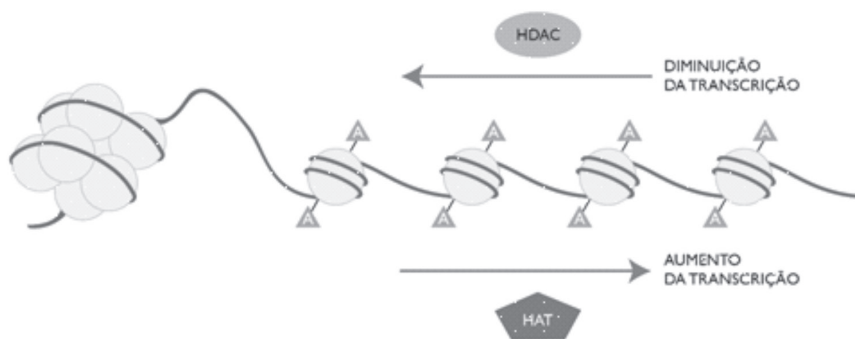


Figura 4. Modulação dos níveis de acetilação de histonas através do sistema HAT-HDAC.

Arte: Ana Kelly Vogt Kommers

As HATs são classificadas em famílias distintas com base em sequências conservadas do domínio HAT. Essas famílias incluem Gcn5/PCAF, CBP/p300, Rtt109 e MYST. É interessante destacar que a acetilação pode se estender a outras proteínas nucleares e mesmo a proteínas citoplasmáticas, regulando diversos processos como ciclo celular, tráfico de vesículas e organização do citoesqueleto. As mais conhecidas são a proteína ligante de CREB (“CREB binding protein”, CBP) e a p300. CBP é um coativador do CREB e está relacionado à Síndrome Rubinstein-Taybi, demonstrando o papel da CBP no desenvolvimento. Ainda, mutações no gene p300 foram encontradas em alguns tipos de tumores, por exemplo, carcinoma colorretal, mama, ovário, gástrico, pulmão e pancreático¹⁸.

A revisão realizada por Wang e colegas (2015)¹⁹ indicou a existência de pelo menos 18 HDACs em mamíferos, agrupadas em 4 classes com base na homologia das proteínas. A família HDAC dependente de zinco consiste em 11 membros divididos em 3 classes (classes I, II, e IV). A Classe I é composta pelas HDACs 1, 2, 3 e 8, enquanto que a Classe II é dividida em subgrupos IIa (HDAC 4, 5, 7, 9) e IIb (HDAC 6, 10). A HDAC11 é o membro solitário da classe IV. Já a classe III é composta por membros da família dependentes de NAD⁺ (conhecidas como sirtuínas), sendo

que essas enzimas foram relacionadas à estabilidade do telômero e, assim, à estabilidade genômica.

Os inibidores de HDACs (iHDAC) são grupos de compostos que, em geral, se ligam ao domínio catalítico que contém zinco da enzima¹⁹. Esses inibidores estão sendo estudados e alguns já são utilizados em clínica como antitumorais, estabilizadores do humor, em doenças neurológicas e condições autoimunes²⁰.

A tricostatina foi a primeira a ser caracterizada como iHDAC e utilizada para síntese de novos compostos, como o ácido hidroxâmicosuberoilânilida (*suberoylanilide hydroxamic acid*, SAHA, também conhecido como vorinostat), sendo, além disso, o primeiro iHDAC aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA para o tratamento do linfoma cutâneo humano de células T em 2006^{21, 22}.

Ainda nesse contexto, tem sido descrito que ácidos graxos de cadeia curta, como o butirato e o ácido valpróico, inibem as classes I e IIa HDACs e podem atravessar facilmente a barreira hemato-encefálica¹⁹.

A metilação de histonas é catalisada por enzimas denominadas histonas metiltransferases (HMTs), sendo que as histonas desmetilases (HDMs) efetuam o processo inverso, removendo o grupo metil das histonas (Figura 5).

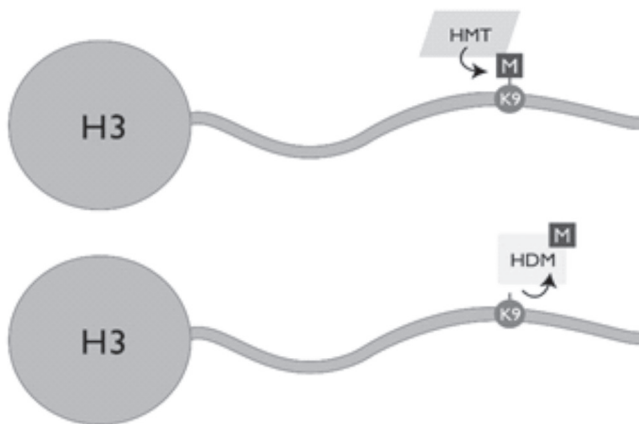


Figura 5. Processo de metilação de histonas, catalisado pelas enzimas HMT e HDM.
Arte: Ana Kelly Vogt Kommers

Diferente da acetilação de histonas, frequentemente associada com a ativação da atividade transcricional e com o aumento da expressão gênica, a metilação das histonas pode resultar em ativação ou repressão gênica. Essas respostas dependem de fatores como a histona e a lisina nas quais ocorre a adição do grupo metil, além do grau de metilação (mono, di ou trimetilação). Por exemplo, tem sido descrito que a monometilação da histona H3 lisina 9 (H3K9) resulta em ativação transcricional, enquanto que a di e trimetilação da H3K9 estão associadas à repressão e ao silenciamento gênico (Figura 6). No caso da histona H3 lisina 4 (H3K4), a di e a trimetilação induzem um relaxamento da estrutura da cromatina, contribuindo para a ativação do processo transcricional⁴, conforme ilustra a Figura 7.

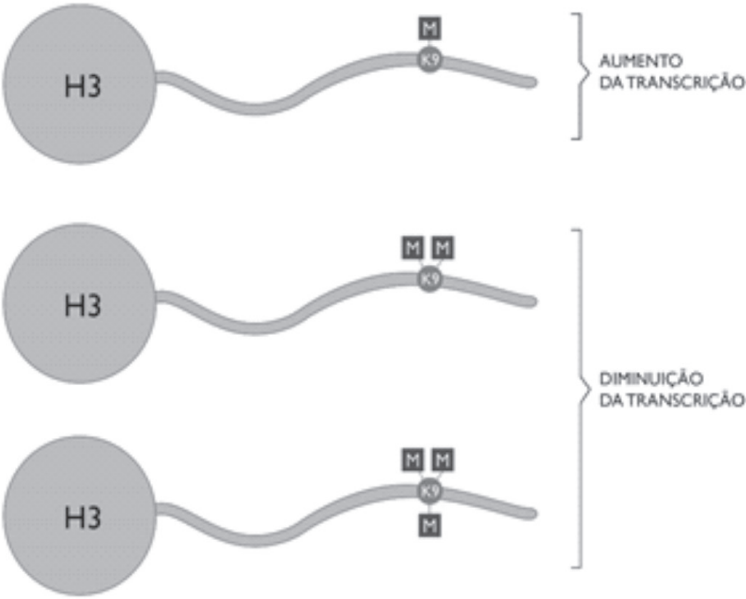


Figura 6. Metilação da H3K9: a monometilação está associada com a ativação transcricional, enquanto que a di e trimetilação induzem ao silenciamento gênico.
Arte: Ana Kelly Vogt Kommer

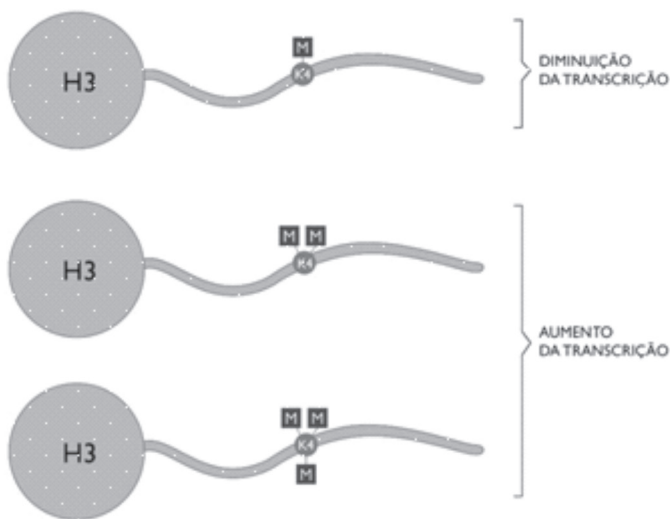


Figura 7. Metilação da H3K4: a monometilação contribui para a repressão transcricional; enquanto que a di e trimetilação promovem o aumento da expressão gênica.

Arte: Ana Kelly Vogt Kommers

1.3 RNAs NÃO CODIFICADORES DE PROTEÍNAS

Um controle epigenético interessante é o dos RNAs não codificadores de proteínas, dentre eles estão: o RNA transportador, o RNA ribossomal, o RNA longo não codificador e o microRNA (miRNA). Um exemplo de RNA longo não codificador de proteínas é o *X-inactive specific transcript* (Xist), descrito em 1991, expresso somente pelo X inativo. No início da diferenciação das células, somente um dos cromossomos produz RNA Xist, que recruta moléculas repressoras levando à trimetilação da histona 3 lisina 27 (H3K27) e, conseqüentemente, à compactação e ao silenciamento do cromossomo²³.

Os RNAs longos não codificadores também parecem ter papéis centrais no *imprinting* genômico, no qual a expressão monoalélica depende da origem materna ou paterna do alelo. O *antisense IGF-2R RNA* (AIR) é expresso a partir do segundo *intron* do gene IGF-2R do cromossomo paterno. O AIR está envolvido no

imprinting do alelo paterno do gene IGF-2R uma vez que age como uma plataforma para a enzima histona metiltransferase, G9a, que dimetila a H3K9, uma marca repressora, no alelo paterno. Assim, o gene IGF-2R é somente expresso do cromossomo materno²⁴.

Em 1993, dois laboratórios independentes mostraram a regulação de fases embrionárias por um microRNA, o lin-14. Os miRNAs podem ligar-se à região não traduzida (*untranslated region* – UTR) do RNA mensageiros, alterando a sua tradução e, muitas vezes, levando à degradação desse RNA mensageiro, impedindo que a proteína seja gerada. Os miRNAs são formados pela RNA polimerase II. O pré-miRNA, com cerca de 70 pares de bases, contendo um trecho de fita dupla devido à complementaridade e parte de fita simples, forma uma estrutura denominada *hairpin*. O pré-miRNA é processado por um complexo protéico - RNase III (Drosha) e pela proteína Pasha ou *DiGeorge Syndrome Critical Region 8 protein* (DGCR8) no núcleo. Após, é transportado para o citoplasma e clivado por outra enzima - a Dicer. Uma das fitas do miRNA é incorporada a um complexo denominado *RNA-Induced Silencing Complex* (RISC), do qual faz parte juntamente com Argonauta (Ago2) e outras proteínas, enquanto que a outra fita é degradada. Uma vasta literatura está sendo obtida sobre o papel dos miRNAs tanto na fisiologia quanto na fisiopatologia de vários tipos de doenças, como tumores e doenças neuropsiquiátricas²³.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature*. 2007;447(7143):396-8.
2. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*. 2007;128(4):693-705.
3. Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature*. 2000;403(6765):41-5.
4. Gupta S, Kim SY, Artis S, Molfese DL, Schumacher A, Sweatt JD, et al. Histone methylation regulates memory formation. *The Journal of neuroscience*. 2010;30(10):3589-99.
5. Reik W, Kelsey G, Walter J. Dissecting de novo methylation. *Nature genetics*. 1999;23(4):380-2.

6. Lei H, Oh SP, Okano M, Juttermann R, Goss KA, Jaenisch R, et al. De novo DNA cytosine methyltransferase activities in mouse embryonic stem cells. *Development*. 1996;122(10):3195-205.
7. Prendergast GC, Ziff EB. Methylation-sensitive sequence-specific DNA binding by the cMyc basic region. *Science*. 1991;251(4990):186-9.
8. Delcuve GP, Khan DH, Davie JR. Roles of histone deacetylases in epigenetic regulation: emerging paradigms from studies with inhibitors. *Clinical Epigenetics*. 2012;4(1):1-13.
9. Gavin DP, Chase KA, Sharma RP. Active DNA demethylation in post-mitotic neurons: A reason for optimism. *Neuropharmacology*. 2013;75:233-45.
10. Ito S, Shen L, Dai Q, Wu SC, Collins LB, Swenberg JA, et al. Tet proteins can convert 5methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Science*. 2011;333(6047):1300-3.
11. Guo JU, Su Y, Zhong C, Ming G-I, Song H. Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain. *Cell*. 2011;145(3):423-34.
12. Jin S-G, Wu X, Li AX, Pfeifer GP. Genomic mapping of 5-hydroxymethylcytosine in the human brain. *Nucleic acids research*. 2011;39(12):5015-24.
13. Globisch D, Münzel M, Müller M, Michalakis S, Wagner M, Koch S, et al. Tissue distribution of 5-hydroxymethylcytosine and search for active demethylation intermediates. *PloS one*. 2010;5(12):e15367.
14. Kriaucionis S, Heintz N. The nuclear DNA base 5-hydroxymethylcytosine is present in Purkinje neurons and the brain. *Science*. 2009;324(5929):929-30.
15. Waggoner D, editor *Mechanisms of disease: epigenesis. Seminars in pediatric neurology*; 2007: Elsevier.
16. Yoo CB, Jones PA. Epigenetic therapy of cancer: past, present and future. *Nature reviews Drug discovery*. 2006;5(1):37-50.
17. Khan O, La Thangue NB. Drug Insight: histone deacetylase inhibitor-based therapies for cutaneous T-cell lymphomas. *Nature Clinical Practice Oncology*. 2008;5(12):714-26.
18. Wang L, Tang Y, Cole PA, Marmorstein R. Structure and chemistry of the p300/CBP and Rtt109 histone acetyltransferases: implications for histone acetyltransferase evolution and function. *Current opinion in structural biology*. 2008;18(6):741-7.
19. Wang Z-Y, Qin W, Yi F. Targeting histone deacetylases: perspectives for epigenetic-based therapy in cardio-cerebrovascular disease. *Journal of geriatric cardiology: JGC*. 2015;12(2):153.

20. Falkenberg KJ, Johnstone RW. Histone deacetylases and their inhibitors in cancer, neurological diseases and immune disorders. *Nature reviews Drug discovery*. 2014;13(9):673-91.
21. Marks PA, Breslow R. Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug. *Nature biotechnology*. 2007;25(1):84-90.
22. Codd R, Braich N, Liu J, Soe CZ, Pakchung AA. Zn (II)-dependent histone deacetylase inhibitors: suberoylanilide hydroxamic acid and trichostatin A. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2009;41(4):736-9.
23. Cao D-D, Li L, Chan W-Y. MicroRNAs: Key Regulators in the Central Nervous System and Their Implication in Neurological Diseases. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(6):842.
24. Santoro F, Mayer D, Klement RM, Warczok KE, Stukalov A, Barlow DP, et al. Imprinted *Igf2r* silencing depends on continuous *Airn* lncRNA expression and is not restricted to a developmental window. *Development*. 2013;140(6):1184-95.

2. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NA NUTRIÇÃO

*Roberta Passos Palazzo
Ionara Rodrigues Siqueira*

Estudos na área da nutrição geralmente estão focados na quantidade adequada de nutrientes para prevenir deficiências e promover a saúde humana. Entretanto, doenças podem ser o resultado da ingestão insuficiente de determinados nutrientes ou da falta de gasto energético e, ainda, dependentes da interação desses nutrientes com o epigenoma¹. Nutrientes e até mesmo dietas afetam o epigenoma através de processos de remodelamento ao longo de toda a vida.

O termo “nutriepigenômica” descreve essas interações e pode ser descrito como o estudo dos nutrientes e dos seus efeitos na saúde humana através de modificações epigenéticas, incluindo componentes no nível transcricional ou pós-transcricional². Um exemplo curioso dentro do contexto de nutriepigenética é a transformação de uma abelha em rainha ou operária, que têm genomas idênticos, diferindo apenas quanto ao padrão alimentar, geleia real ou pólen e néctar, respectivamente. Com a dieta de geleia real, a abelha rainha tem comportamentos característicos, como voos de acasalamento e morfologia diferenciada, ovários funcionais e um grande abdômen. As abelhas operárias expressam o gene da enzima DNA metiltransferase 3 (DNMT3), que silencia a transcrição de genes relacionados às características da abelha rainha, enquanto que a geleia real silencia o gene da DNMT3 permitindo a expressão dos genes específicos da abelha rainha³.

Em relação à dieta, percebemos que nutrientes capazes de afetar os seguintes metabólitos, S-adenosilmetionina (doador de grupos metil) ou S-adenosilhomocisteína (um inibidor de metil-

transferases), potencialmente alteram a metilação de ácido desoxirribonucleico (DNA) e histonas². Nutrientes da dieta como vitamina B6, B12, colina e ácido fólico são as principais fontes influentes capazes de fornecer grupos metil e regular vias bioquímicas para processos de metilação. O ácido fólico, ou folato, é fundamental para a geração de Sadenosilmetionina⁴. Quando deficiente durante a gestação, ocorrem alterações na metilação de DNA associadas com descolamento prematuro da placenta, pré-eclâmpsia, abortos espontâneos, partos prematuros, defeitos cardíacos congênitos, baixo peso ao nascer e, principalmente, defeitos de fechamento de tubo neural⁵. O mecanismo preciso dessas alterações, entretanto, necessita de maiores esclarecimentos.

Outro exemplo de componente envolvido em alterações epigenéticas é o butirato, um ácido graxo de cadeia curta, originado a partir da ação fermentadora da microbiota intestinal sobre alimentos ricos em fibras que consumimos, especialmente carboidratos não digeríveis. Bactérias anaeróbicas dos gêneros *Bacterioides* e *Bifidobacterium*, presentes no intestino grosso do homem, são as principais envolvidas na síntese de polimerases e glicosilases, resultando em metabólitos menores como o acetato, lactato, succinato e o butirato. Os produtos intermediários e finais da fermentação realizada pela microbiota dependem, em parte, da composição química do carboidrato⁶. O mecanismo epigenético associado ao butirato envolve alterações sobre a atividade da histona deacetilase (HDAC). Seus níveis, influenciados pela ingestão de fibras, associam-se com o aumento da acetilação global de histonas em células do sistema imune, diminuição da expressão de citocinas pró-inflamatórias e indução de apoptose quando incluída em cultura de células tumorais⁷.

Em adição ao perfil nutricional de um indivíduo, é preciso considerar os efeitos epigenéticos transgeracionais, pré-natais e pós-natais, em momentos críticos do desenvolvimento, capazes de gerar modificações estáveis bem como predisposição a doenças durante a vida⁸.

2.1 INFLUÊNCIAS TRANSGERACIONAIS

Intervenções nutricionais (restrição calórica, dietas ricas em gorduras ou carboidratos), distúrbios endócrinos, diabetes materno e lactação podem gerar marcas nas futuras gerações. O excesso de alimentação por parte do pai ou avô paterno, por exemplo, induz a risco aumentado de doenças cardiovasculares e diabetes, enquanto que a restrição da disponibilidade de alimentos durante a adolescência paterna reduz esse risco cardiovascular na prole. Tais resultados sugerem que os hábitos alimentares, no início da adolescência, correspondem a um parâmetro fundamental considerando o potencial efeito em futuras gerações⁹. Tal traço de herança epigenética transgeracional sexo-dependente também foi verificado em um estudo prévio em ratos, nos quais a exposição paterna à dieta rica em gordura refletiu na disfunção em células β nas fêmeas da prole¹⁰.

2.2 INFLUÊNCIAS NO PRÉ-NATAL E PUERPÉRIO

Pesquisas recentes sugerem que eventos nas fases iniciais da vida, como nutrição pré-natal deficiente, apresentam efeitos significativos sobre a maturação reprodutiva da prole, levando a complicações como: restrição do crescimento fetal, baixo peso ao nascer, disfunções reprodutivas pós-natal, diminuição da fertilidade, podendo contribuir inclusive com a antecipação do envelhecimento e da menopausa¹¹. Diferentes evidências apontam para a relevância dos aspectos nutricionais no pré-natal e puerpério sobre a determinação de suscetibilidade a certas doenças na vida adulta. Indicadores substanciais para essa teoria são coletados nos campos das doenças metabólicas, como obesidade, dislipidemias, hipertensão, hiperinsulinemia, assim como no campo das doenças cardiovasculares¹². Um exemplo histórico dessa suscetibilidade remete ao final da Segunda Guerra Mundial, em 1944, quando a Holanda sofreu o “Hunger Winter”, acarretando na morte de vinte mil pessoas e afetando outras quatro milhões. Filhos e netos das gestantes daquela época permanecem até hoje

afetados por transtornos alimentares, diabetes e doenças coronarianas em função de modulações epigenéticas. Os indivíduos expostos a tal evento no período pré-natal, mesmo seis décadas depois, apresentam menos índices de metilação de DNA no gene fator de crescimento semelhante à insulina-2 (IGF-2), relacionado com crescimento, desenvolvimento e de expressão materna, em comparação com irmãos do mesmo sexo não afetados¹³.

Em relação aos estudos em modelos animais, por exemplo, foi demonstrado em camundongos que a dieta hipoprotéica durante a gestação provoca modificações na expressão gênica, microRNA (miRNA), e diferentes padrões de metilação de DNA no cérebro da prole, resultando em alterações no sistema renina-angiotensina¹⁴.

Da mesma forma, evidências apontam que a exposição à dieta rica em gordura leva a mecanismos epigenéticos específicos no genoma fetal¹⁵. Em primatas, a exposição crônica materna a este tipo de dieta resulta no aumento da acetilação de histona 3 lisina 14 (H3K14), histona 3 lisina 9 (H3K9) e histona 3 lisina 18 (H3K18), juntamente com aumento da dimetilação de H3K9 e trimetilação de H3K9 e histona 3 lisina 27 (H3K27) em amostras de tecido hepático fetal, o qual também revelou índices elevados de triglicerídeos e doença hepática gordurosa não alcoólica¹⁶. Estudos anteriores sugerem que machos são mais suscetíveis aos efeitos deletérios da dieta materna rica em gorduras, o que inclui a sua maior tendência à presença de estresse oxidativo em relação às fêmeas da prole¹⁷.

Há evidências de que alguns micronutrientes relacionados à disponibilidade de grupamentos metil, como vitaminas B12, B6, B2, a colina, a betaína e a metionina demonstraram influenciar o estado epigenético. Baixa disponibilidade desses nutrientes na dieta materna demonstrou influenciar diretamente não apenas a expressão gênica, mas também o fenótipo da criança. Na fase adulta, a prole apresentou maior peso e maior percentual de gordura, acompanhados de resistência insulínica e de pressão arterial elevada. A redução desses micronutrientes leva à redução da metilação de duas regiões do DNA de forma gênero-depen-

dente, ou seja, na região do receptor IGF-2 em meninas e *gene-trap locus 2* (GTL-2) em meninos. Esses genes possuem um papel importante na regulação da glicose no sangue e no crescimento, respectivamente¹⁸.

Outra exposição capaz de promover modulações epigenéticas no período pré-natal é o álcool, relacionado com microcefalia, alterações no número de células, volume do neurópilo e controle do comportamento na fase adulta¹⁹.

2.3 INFLUÊNCIAS NA FASE ADULTA

É válido mencionar que a privação de alimento também é capaz de influenciar modificações epigenéticas. No estudo de Funato e colaboradores (2011)²⁰, ratos em 16 horas de jejum aumentaram a produção das HDACs 3 e 4 e reduziram níveis de HDACs 10 e 11 em células do hipotálamo medial. Ainda, animais expostos à dieta rica em gordura exibiram aumento nos níveis de HDACs 5 e 8 e redução da acetilação global das histonas 3 (H3) e 4 (H4). Estes resultados sustentam a hipótese de que tais alterações epigenéticas influenciam no controle do apetite e metabolismo energético²¹.

A exposição a determinados tipos de dieta pode resultar em modificações no epigenoma, especificamente no metiloma (padrão de metilação do DNA), como verificamos anteriormente na descrição dos fitoquímicos.

Os hábitos alimentares, muitas vezes vinculados à determinada localização geográfica, podem influenciar de formas distintas nos indicadores de saúde de cada região. Um exemplo disso são os índices de câncer das regiões norte e sul da Itália, onde existe um gradiente geográfico significativo refletindo menores incidências de câncer na porção sul, que segue mais o modelo de vida mediterrâneo, em comparação com a região norte. Um dos componentes específicos da dieta da região sul é a maçã *Annurca*, rica em ácido clorogênico, floridzina, quercetina, catequina, epicatequina, procianidina e rutina. Em estudo *in vitro*, o tratamento com extrato polifenólico de *Annurca* revelou potente

atividade desmetiladora através da inibição de DNMTs e indução de apoptose em linhagens de células de câncer colorretal²².

2.4 COMPOSTOS OBTIDOS DE PLANTAS E EPIGENÉTICA

Diversos estudos demonstram, de forma consistente, os efeitos de outro elemento frequente na dieta: o café. A ingestão habitual da bebida entre portadores de doença hepática crônica reduz o risco de cirrose e uma incidência substancialmente menor de carcinoma hepatocelular²³. Além disso, entre pessoas que rotineiramente ingerem café, existe uma diminuição no risco global de câncer de 13-18%²⁴. Como o impacto de cafés cafeinados e descafeinados sobre a saúde é similar, o efeito anticâncer parece relacionar-se aos polifenóis, como o ácido clorigênico e o ácido cafeico. Ambos compostos são excelentes substratos para a catecol-O-metiltransferase, a qual afeta o conjunto de doadores de grupo metil e subsequentemente modifica marcas de metilação no DNA²⁵.

Também diferentes compostos do metabolismo secundário de plantas, como os polifenóis, podem interferir nos mecanismos epigenéticos, remodelando a cromatina, por exemplo, pela regulação de HDACs e DNMTs. Essas propriedades podem estar relacionadas às ações antitumorais, anti-inflamatórias e antioxidantes descritas.

Por mais de uma década, existe um interesse considerável no uso de produtos botânicos naturais na prevenção de doenças, inclusive alguns tipos de câncer. Os estudos sobre a modulação epigenética por componentes derivados de plantas estão, geralmente, focados em propriedades antineoplásicas em diferentes linhagens celulares.

As catequinas, as quais incluem epicatequina (EC), epicatequina-3-galato (ECG), epigallocatequina (EGC) e epigallocatequina 3-galato (EGCG)²⁶, são os compostos mais abundantes no chá verde. Dessas, a EGCG representa mais de 50% do total de polifenóis no chá verde²⁷. A EGCG demonstrou induzir apoptose em muitas células cancerosas sem afetar células normais²⁸. É possível que esse potencial da EGCG envolva diferentes meca-

nismos. Um deles inclui a inibição de DNA metiltransferase 1 (DNMT1), resultando na redução da metilação e reativação de genes anteriormente silenciados. Linhagens de carcinoma de células escamosas humanas esofágicas expostas à EGCG hipometilaram e reexpressaram genes relacionados, por exemplo, com a supressão tumoral e o reparo de DNA²⁹. O mesmo perfil de resposta foi observado também em estudo com células de carcinoma oral³⁰. Além da inibição direta da DNMT pela EGCG, também foi reportado que o consumo de polifenóis poderia levar a uma redução da disponibilidade de S-adenosil-L-metionina (SAM) e a um aumento de S-adenosil-L-homocisteína (SAH) e homocisteína, portanto, fornecendo evidências de uma inibição da metilação de DNA indiretamente³¹. Recentemente, Moiseeva e colaboradores (2007)³² demonstraram que doses baixas de compostos bioativos como a EGCG e a genisteína por 14 dias resultam em alterações epigenéticas com redução do crescimento celular e aumento da apoptose em células de câncer de mama.

O sulforafano (SFN), um isotiocianato presente em diversos vegetais da família das crucíferas, como o brócolis, o repolho e a couve, demonstrou reduzir o risco de desenvolvimento de muitos tipos comuns de câncer³³⁻³⁶. Sua ação quimiopreventiva ocorre através de diversos mecanismos, como interrupção do ciclo celular seguido de apoptose e indução de enzimas detoxificantes de fase II³⁷⁻³⁹. DNMTs, especialmente DNMT1 e DNMT3A, foram diminuídas em células de câncer de mama tratadas com SFN, favorecendo o processo de apoptose⁴⁰. Ainda foi descrita a sua ação inibidora de HDAC, levando a um estado de hiperacetilação global e local⁴¹⁻⁴³. O SFN também demonstrou a capacidade de inibir HDACs *in vivo*, em modelos animais e humanos. Camundongos tratados com uma única dose oral de 10µM de SFN apresentaram uma inibição significativa de HDAC, com aumento da acetilação de histonas H3 e H4 em mucosa colônica⁴⁴. É interessante que, em amostras humanas, uma única dose de 68 g de broto de brócolis foi capaz de inibir a atividade da HDAC de forma significativa em células mononucleares do sangue periférico nas 3 e 6h após o consumo⁴⁵.

A genisteína, uma isoflavona pertencente ao grupo dos flavonoides encontrada em inúmeras plantas como feijão fava e soja, demonstrou propriedades antitumoral e antiangiogênica em vários tipos de câncer⁴⁶. Um potencial mecanismo que recebeu atenção consiste no envolvimento da genisteína na regulação da transcrição gênica ou silenciamento através de modulações epigenéticas como metilação de DNA e/ou modificações na cromatina⁴⁷. Em células de câncer de próstata, a genisteína induziu a expressão de alguns genes supressores tumorais de reparo do DNA⁴⁸. Dentre os demais achados, incluíram-se eventos de hipometilação de regiões promotoras e hiperacetilação das histonas H3 e H4 em sítios de início de transcrição, resultando na indução de apoptose^{49, 50}.

A curcumina, pigmento amarelo presente no açafrão-da-Índia, é relacionada com múltiplas atividades benéficas como propriedade anti-inflamatória, anti-angiogênica, cicatrizante, antioxidante e antitumoral. Em diversos modelos animais e estudos em humanos, a curcumina demonstrou ser segura, mesmo em doses altas; entretanto, sua solubilidade e biodisponibilidade são obstáculos para o uso terapêutico⁵¹. Evidências sugerem que a ação quimiopreventiva da curcumina esteja associada à atividade hipometiladora do DNA. Estudos apontam sua atividade inibitória de enzimas epigenéticas, HDACs e histona acetiltransferases (HATs) em linhagens tumorais⁵². Kang e colaboradores (2006)⁵³ demonstraram modificações de histonas associadas à curcumina, resultando em maior neurogênese, sinaptogênese e migração de células progenitoras neurais em modelo *in vitro* de células-tronco adultas derivadas do cérebro. A incubação com a curcumina reverteu o efeito pró-inflamatório de condições hiperglicêmicas em monócitos humanos modulando mecanismos epigenéticos, especificamente reduziu a atividade da HAT e induziu a HDAC2⁵⁴.

O resveratrol é um polifenol derivado da uva, frutas silvestres, amendoim e outras fontes. Ao longo dos anos, foram descobertas interessantes propriedades, como antitumoral pela modulação de vias de sinalização capazes de controlar: apoptose, inflamação, angiogênese, metástase, crescimento e divisão

celular⁵⁵. O composto apresenta uma atividade inibitória sobre as DNMTs, porém, de forma não tão eficaz quanto a ECGC⁵⁶. Em estudo de modelo de hipertensão, o resveratrol conferiu um efeito preventivo acompanhado de aumento na trimetilação de H3K27 em células da artéria aorta, marca epigenética vinculada com silenciamento gênico⁵⁷. Já em células de câncer de mama, o resveratrol revelou sua capacidade de prevenir o silenciamento do gene *Breast cancer 1* (BRCA1 - supressor de tumor), envolvendo a ativação de inibidores de HDAC do tipo III (Sirtuína 1 - SIRT1 - e p300) tanto em estudos *in vivo* quanto *in vitro*⁵⁸.

2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos esses achados ilustram a evolução de uma ideia mais passiva frente à herança genética para uma visão de maior protagonismo da dieta, através da qual nossas escolhas nutricionais representam ferramentas importantíssimas na modulação do nosso perfil epigenético e consequentes reflexos na nossa qualidade de vida capazes, inclusive, de reverberar nas próximas gerações. É importante que tal conhecimento seja aplicado e que a qualidade nutricional não seja menosprezada frente à praticidade e a palatabilidade de alternativas frequentes em nossa rotina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Remely, M., Stefanska, B., Lovrecic, L., Magnet, U. & Haslberger, A.G. Nutriepigenomics: the role of nutrition in epigenetic control of human diseases. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*18, 328-333 (2015).
2. Tammen, S.A., Friso, S. & Choi, S.-W. Epigenetics: The link between nature and nurture. *Molecular Aspects of Medicine*34, 753-764 (2013).
3. Chittka, A. & Chittka, L. Epigenetics of Royalty. *PLoS Biology*8, e1000532 (2010).
4. Kalani, A. et al. Nutri-epigenetics ameliorates blood-brain barrier damage and neurodegeneration in hyperhomocysteinemia: role of folic acid. *J Mol Neurosci*52, 202-15 (2014).
5. Molloy, A.M., Kirke, P.N., Brody, L.C., Scott, J.M. & Mills, J.L. Effects of folate and vitamin B12 deficiencies during pregnancy on fetal, infant, and child development. *Food Nutr Bull*29, S101-11; discussion S112-5 (2008).

6. Marti del Moral, A., Moreno-Aliaga, M.J. & Martínez Hernández, J.A. Efecto de los prebióticos sobre el metabolismo lipídico. *Nutrición Hospitalaria*18, 181-188 (2003).
7. Donohoe, D.R. et al. A gnotobiotic mouse model demonstrates that dietary fiber protects against colorectal tumorigenesis in a microbiota- and butyrate-dependent manner. *Cancer Discov*4, 1387-97 (2014).
8. Perera, F. & Herbstman, J. Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease. *Reprod Toxicol*31, 363-73 (2011).
9. Kaati, G., Bygren, L.O. & Edvinsson, S. Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period. *Eur J Hum Genet*10, 682-8 (2002).
10. Ng, S.F. et al. Chronic high-fat diet in fathers programs beta-cell dysfunction in female rat offspring. *Nature*467, 963-6 (2010).
11. Chan, K.A., Tsoulis, M.W. & Sloboda, D.M. Early-life nutritional effects on the female reproductive system. *J Endocrinol*224, R45-62 (2015).
12. Lillycrop, K.A. Effect of maternal diet on the epigenome: implications for human metabolic disease. *Proc Nutr Soc*70, 64-72 (2011).
13. Heijmans, B.T. et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*105, 17046-17049 (2008).
14. Goyal, R., Goyal, D., Leitzke, A., Gheorghe, C.P. & Longo, L.D. Brain renin-angiotensin system: fetal epigenetic programming by maternal protein restriction during pregnancy. *Reprod Sci*17, 227-38 (2010).
15. Heerwagen, M.J., Miller, M.R., Barbour, L.A. & Friedman, J.E. Maternal obesity and fetal metabolic programming: a fertile epigenetic soil. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*299, R711-22 (2010).
16. Aagaard-Tillery, K.M. et al. Developmental origins of disease and determinants of chromatin structure: maternal diet modifies the primate fetal epigenome. *J Mol Endocrinol*41, 91-102 (2008).
17. Bayol, S.A., Simbi, B.H., Fowkes, R.C. & Stickland, N.C. A maternal "junk food" diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic Fatty liver disease in rat offspring. *Endocrinology*151, 1451-61 (2010).
18. Cooper, W.N. et al. DNA methylation profiling at imprinted loci after periconceptional micronutrient supplementation in humans: results of a pilot randomized controlled trial. *Faseb j*26, 1782-90 (2012).
19. Young, J.K., Giesbrecht, H.E., Eskin, M.N., Aliani, M. & Suh, M. Nutrition implications for fetal alcohol spectrum disorder. *Adv Nutr*5, 675-92 (2014).
20. Funato, H., Oda, S., Yokofujita, J., Igarashi, H. & Kuroda, M. Fasting and high-fat diet alter histone deacetylase expression in the medial hypothalamus. *PLoS One*6, e18950 (2011).

21. Milagro, F.I., Mansego, M.L., De Miguel, C. & Martinez, J.A. Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: progresses and perspectives. *Mol Aspects Med*34, 782812 (2013).
22. Fini, L. et al. Annurca apple polyphenols have potent demethylating activity and can reactivate silenced tumor suppressor genes in colorectal cancer cells. *J Nutr*137, 2622-8 (2007).
23. Chen, S., Teoh, N.C., Chitturi, S. & Farrell, G.C. Coffee and non-alcoholic fatty liver disease: brewing evidence for hepatoprotection? *J Gastroenterol Hepatol*29, 435-41 (2014).
24. Cao, S. et al. Coffee consumption and risk of prostate cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Carcinogenesis*35, 256-61 (2014).
25. Rajavelu, A., Tulyasheva, Z., Jaiswal, R., Jeltsch, A. & Kuhnert, N. The inhibition of the mammalian DNA methyltransferase 3a (Dnmt3a) by dietary black tea and coffee polyphenols. *BMC Biochem*12, 16 (2011).
26. Graham, H.N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med*21, 334-50 (1992).
27. Lin, J.K. & Liang, Y.C. Cancer chemoprevention by tea polyphenols. *Proc Natl Sci Counc Repub China B*24, 1-13 (2000).
28. Gu, B., Ding, Q., Xia, G. & Fang, Z. EGCG inhibits growth and induces apoptosis in renal cell carcinoma through TFPI-2 overexpression. *Oncol Rep*21, 635-40 (2009).
29. Fang, M.Z. et al. Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits DNA methyltransferase and reactivates methylation-silenced genes in cancer cell lines. *Cancer Res*63, 7563-70 (2003).
30. Kato, K. et al. Effects of green tea polyphenol on methylation status of RECK gene and cancer cell invasion in oral squamous cell carcinoma cells. *Br J Cancer*99, 647-54 (2008).
31. Lee, W.J. & Zhu, B.T. Inhibition of DNA methylation by caffeic acid and chlorogenic acid, two common catechol-containing coffee polyphenols. *Carcinogenesis*27, 269-77 (2006).
32. Moiseeva, E.P., Almeida, G.M., Jones, G.D. & Manson, M.M. Extended treatment with physiologic concentrations of dietary phytochemicals results in altered gene expression, reduced growth, and apoptosis of cancer cells. *Mol Cancer Ther*6, 3071-9 (2007).
33. Higdon, J.V., Delage, B., Williams, D.E. & Dashwood, R.H. Cruciferous vegetables and human cancer risk: epidemiologic evidence and mechanistic basis. *Pharmacol Res*55, 224-36 (2007).
34. Pledgie-Tracy, A., Sobolewski, M.D. & Davidson, N.E. Sulforaphane induces cell type-specific apoptosis in human breast cancer cell lines. *Mol Cancer Ther*6, 1013-21 (2007).

35. Keum, Y.S. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of broccoli sprouts on the suppression of prostate cancer in transgenic adenocarcinoma of mouse prostate (TRAMP) mice: implication of induction of Nrf2, HO-1 and apoptosis and the suppression of Akt-dependent kinase pathway. *Pharm Res*26, 2324-31 (2009).
36. Cheung, K.L. & Kong, A.N. Molecular targets of dietary phenethyl isothiocyanate and sulforaphane for cancer chemoprevention. *Aaps j*12, 87-97 (2010).
37. Bryant, C.S. et al. Sulforaphane induces cell cycle arrest by protecting RB-E2F-1 complex in epithelial ovarian cancer cells. *Mol Cancer*9, 47 (2010).
38. Chu, W.F. et al. Sulforaphane induces G2-M arrest and apoptosis in high metastasis cell line of salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Oral Oncol*45, 998-1004 (2009).
39. Dinkova-Kostova, A.T. et al. Induction of the phase 2 response in mouse and human skin by sulforaphane-containing broccoli sprout extracts. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*16, 84751 (2007).
40. Meeran, S.M., Patel, S.N. & Tollefsbol, T.O. Sulforaphane causes epigenetic repression of hTERT expression in human breast cancer cell lines. *PLoS One*5, e11457 (2010).
41. Bhamre, S., Sahoo, D., Tibshirani, R., Dill, D.L. & Brooks, J.D. Temporal changes in gene expression induced by sulforaphane in human prostate cancer cells. *Prostate*69, 181-90 (2009).
42. Telang, U., Brazeau, D.A. & Morris, M.E. Comparison of the effects of phenethyl isothiocyanate and sulforaphane on gene expression in breast cancer and normal mammary epithelial cells. *Exp Biol Med (Maywood)*234, 287-95 (2009).
43. Dashwood, R.H. & Ho, E. Dietary agents as histone deacetylase inhibitors: sulforaphane and structurally related isothiocyanates. *Nutr Rev*66 Suppl 1, S36-8 (2008).
44. Myzak, M.C., Hardin, K., Wang, R., Dashwood, R.H. & Ho, E. Sulforaphane inhibits histone deacetylase activity in BPH-1, LnCaP and PC-3 prostate epithelial cells. *Carcinogenesis*27, 8119 (2006).
45. Myzak, M.C., Tong, P., Dashwood, W.M., Dashwood, R.H. & Ho, E. Sulforaphane retards the growth of human PC-3 xenografts and inhibits HDAC activity in human subjects. *Exp Biol Med (Maywood)*232, 227-34 (2007).
46. Barnes, S. Effect of genistein on in vitro and in vivo models of cancer. *J Nutr*125, 777s-783s (1995).
47. Li, Y. & Tollefsbol, T.O. Impact on DNA methylation in cancer prevention and therapy by bioactive dietary components. *Curr Med Chem*17, 2141-51 (2010).
48. Fang, M.Z. et al. Reversal of hypermethylation and reactivation of p16INK4a, RARbeta, and MGMT genes by genistein and other isoflavones from soy. *Clin Cancer Res*11, 7033-41 (2005).

49. Majid, S. et al. Genistein induces the p21WAF1/CIP1 and p16INK4a tumor suppressor genes in prostate cancer cells by epigenetic mechanisms involving active chromatin modification. *Cancer Res*68, 2736-44 (2008).
50. Kikuno, N. et al. Genistein mediated histone acetylation and demethylation activates tumor suppressor genes in prostate cancer cells. *Int J Cancer*123, 552-60 (2008).
51. Shishodia, S., Chaturvedi, M.M. & Aggarwal, B.B. Role of curcumin in cancer therapy. *Curr Probl Cancer*31, 243-305 (2007).
52. Chen, Y. et al. Curcumin, both histone deacetylase and p300/CBP-specific inhibitor, represses the activity of nuclear factor kappa B and Notch 1 in Raji cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*101, 427-33 (2007).
53. Kang, S.K., Cha, S.H. & Jeon, H.G. Curcumin-induced histone hypoacetylation enhances caspase-3-dependent glioma cell death and neurogenesis of neural progenitor cells. *Stem Cells Dev*15, 165-74 (2006).
54. Yun, J.M., Jialal, I. & Devaraj, S. Epigenetic regulation of high glucose-induced proinflammatory cytokine production in monocytes by curcumin. *J Nutr Biochem*22, 450-8 (2011).
55. Bishayee, A. Cancer prevention and treatment with resveratrol: from rodent studies to clinical trials. *Cancer Prev Res (Phila)*2, 409-18 (2009).
56. Papoutsis, A.J., Lamore, S.D., Wondrak, G.T., Selmin, O.I. & Romagnolo, D.F. Resveratrol prevents epigenetic silencing of BRCA-1 by the aromatic hydrocarbon receptor in human breast cancer cells. *J Nutr*140, 1607-14 (2010).
57. Han, S. et al. Resveratrol affects histone 3 lysine 27 methylation of vessels and blood biomarkers in DOCA salt-induced hypertension. *Mol Biol Rep*42, 35-42 (2015).
58. Kaerberlein, M. et al. Substrate-specific activation of sirtuins by resveratrol. *J Biol Chem*280, 17038-45 (2005).

3. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NA OBESIDADE HUMANA

*Gilson Dorneles
Alessandra Peres*

A redução no gasto energético em conjunto com o excesso de consumo calórico são considerados os principais fatores etiológicos para a obesidade, sugerindo que esta condição seja altamente associada a um estilo de vida inapropriado¹. Atualmente, a obesidade é considerada um dos principais problemas de saúde pública com sua taxa de prevalência aumentando dramaticamente em diversos países. Em estimativas prospectivas, no mundo, aproximadamente 2,3 bilhões de pessoas foram diagnosticadas com sobrepeso ou obesidade no ano de 2015². Estes dados tornam-se alarmantes, uma vez que essa condição é considerada um fator de risco para diversas doenças, como incapacidade física, doenças endócrinas, metabólicas, cardiovasculares, pulmonares e alguns tipos de câncer³. Nesse contexto, a obesidade e suas doenças associadas impactam negativamente os gastos financeiros de saúde pública no Brasil e em outros países, com custo estimado total de US\$ 2,1 bilhões no sistema de saúde pública brasileiro⁴. Além disso, deve-se ressaltar que as complicações associadas à obesidade acarretam em redução da qualidade e expectativa de vida e morte prematura⁵. Assim, torna-se necessário o entendimento dos processos fisiopatológicos envolvidos na obesidade, o que pode contribuir para a busca de estratégias preventivas e terapêuticas.

Quando o balanço energético torna-se positivo, ou seja, o aumento da ingestão calórica excede o gasto energético, mecanismos hipertróficos e hiperplásicos remodelam e expandem o tecido adiposo⁶. Essa remodelação está associada com a maior infiltração de células imunes para o microambiente do tecido adiposo. Isto,

consequentemente, desregula a produção de citocinas e outras substâncias e aumenta os processos inflamatórios em uma condição conhecida como inflamação crônica de baixo grau, isto é, uma elevação de 2-3 vezes em processos inflamatórios sistêmicos em indivíduos obesos quando comparado a indivíduos eutróficos⁷. Evidências demonstram papel essencial do tecido adiposo tanto na proteção quanto no desenvolvimento de doenças cardio-metabólicas e a inflamação crônica de baixo grau é compreendida como uma chave entre tecido adiposo, disfunções metabólicas (obesidade) e desfechos de doenças⁸. Por exemplo, citocinas como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) são capazes de fosforilar o resíduo de serina do receptor de insulina tipo 1 (IRS-1), inibindo a ação da insulina sobre a translocação de transportadores de glicose (GLUT's) e a consequente captação de glicose^{9,10}.

Por outro lado, os agentes causais responsáveis pelo desenvolvimento da obesidade parecem não apenas serem dependentes do aumento do consumo calórico e redução do gasto energético, podendo esses desequilíbrios subdividirem-se em fatores genéticos e ambientais, ou mais ainda, uma combinação de ambos. Tal interação acarreta nas alterações fisiológicas e imunológicas que caracterizam a obesidade¹¹. Neste sentido, a interação ambiente-gene ganha destaque no contexto atual como um dos mais importantes reguladores na susceptibilidade e desenvolvimento da obesidade¹². Estudos com gêmeos demonstram que a influência genética para alguns parâmetros é baixa ao nascimento, mas aumenta sua importância com o passar da idade, sugerindo que fatores ambientais exercem forte impacto, sobretudo em mulheres pré-adolescentes^{12,13}. Esses achados sugerem, então, o envolvimento da maquinaria epigenética na fisiopatologia da obesidade, conforme será discutido a seguir.

3.1 EPIGENÉTICA NA OBESIDADE HUMANA

Estudos em humanos apontaram fortes evidências de que a obesidade materna durante a gravidez é um fator de risco para o desenvolvimento dessa condição clínica para os seus descendentes.

tes¹⁶. Estudos posteriores com modelos animais de manipulação dietética durante a gravidez e lactação e em modelos de subnutrição ou em um contexto de excesso de consumo alimentar, demonstraram ainda que a obesidade pode ser transmitida através de múltiplas gerações via linhas maternas¹⁷ ou paternas¹⁸ através de mecanismos epigenéticos. Assim, um ambiente adverso durante períodos *in utero* ou de lactação pode estar envolvido no desenvolvimento futuro de obesidade, sugerindo que tanto a nutrição materna quanto a paterna ou um estilo de vida perinatal inapropriado podem estar relacionados à programação gênica do feto/recém-nascido¹⁹.

Neste contexto, utilizando um modelo de fertilização *in vitro* para garantir a herança exclusiva através de gametas, Huypens e colaboradores (2016)²⁰ demonstraram recentemente que uma dieta hiperlipídica parental tornou a prole mais suscetível ao desenvolvimento de obesidade e diabetes.

Há poucas evidências abordando a influência epigenética na obesidade humana, porém um dos estudos mais significativos na área foi realizado com crianças que nasceram de mulheres expostas à desnutrição extrema durante a gravidez devido à grande fome no inverno holandês ocorrido na II Guerra Mundial. Foi possível identificar uma redução no nível de metilação do gene fator de crescimento semelhante à insulina-2 (IGF-2) naquelas crianças quando adultas^{21,22}. Além disso, esses mesmos indivíduos também apresentaram maior probabilidade de desenvolvimento de obesidade e intolerância à glicose em uma condição dependente ao tempo de exposição à fome^{23,24}.

No entanto, não apenas a nutrição, mas também fatores ambientais como o sedentarismo parecem contribuir para uma fonte de diferenças interindividuais no que diz respeito ao desenvolvimento da obesidade e de outras doenças metabólicas. Por exemplo, em uma coorte de 738 voluntários estratificados por idade, sexo e metabolismo glicídico, Luttmer e colaboradores (2013)²⁵ identificaram que indivíduos que apresentavam síndrome metabólica possuíam níveis de metilação de ácido desoxirribonucleico (DNA) reduzidos em comparação a indivíduos sem síndrome

metabólica. Essa relação foi principalmente atribuída a associações lineares com níveis plasmáticos de jejum de glicose e lipoproteína de alta densidade (HDL). Assim, a hipometilação global de DNA tem sido considerada um fator independentemente associado a alterações metabólicas características da obesidade²⁵.

Um passo inicial para compreender como regulações epigenéticas estão relacionadas ao desenvolvimento da obesidade está na análise do impacto de *imprinting* genômico, um fenômeno pelo qual certos genes são expressos apenas por um alelo, enquanto o outro é inativado por marcadores epigenéticos, como a metilação de DNA, de modo a afetar a expressão e o balanço de expressões gênicas de alelos maternos e paternos²⁶.

Muitos desses eventos são conhecidos por afetar funções metabólicas de diferenciação, desenvolvimento e estabilidade celular, sendo que muitos genes que sofrem a ação do processo são fatores de crescimento ou reguladores da expressão pós-transcricional²⁷. Um exemplo clássico inclui a Síndrome Prader-Willi, na qual uma deleção paterna da molécula de RNA não codificante a 15q11-15q13 resulta em uma síndrome caracterizada por severos traços de obesidade devido ao aumento da compulsão alimentar^{28,29}. Diferente dessa síndrome que envolve apenas a alteração de um gene, a obesidade, por ser uma doença multifatorial, pode envolver mutações em mais de um gene sob controle epigenético. Apesar disso, um corpo crescente de conhecimento demonstra que modificações epigenéticas impactam em uma série de outros genes e processos, não apenas associados ao *imprinting* genômico, mas também a eventos conhecidamente reguladores da obesidade.

É importante mencionar que existem poucos estudos abordando modificações de histonas na obesidade humana. Até o momento, metilação de DNA, em nível global, sítio específico ou em estudos de associação do genoma (conhecidos como *genome-wide*) são os principais eventos epigenéticos estudados. O item abaixo descreverá a relação entre modulação epigenética na expressão de genes associados com a obesidade.

3.2 GENES EPI-OBESOGÊNICOS

Avanços contínuos na tecnologia e no conhecimento científico permitem um maior entendimento de como mecanismos epigenéticos podem influenciar genes relacionados ao desenvolvimento da obesidade. A esses genes dá-se o nome de genes obesogênicos, ou seja, são aqueles que possuem papel crucial na expansão do tecido adiposo visceral e desregulações metabólicas³⁰. Resumidamente, genes obesogênicos podem ser associados à: adipogênese, ciclo celular, inflamação, metabolismo energético (lipídico e glicídico), regulação do apetite e resistência insulínica³¹.

A procura por genes humanos que podem ser regulados por mecanismos epigenéticos em relação à obesidade é de grande interesse. Muitos deles produzem um estado de hipermetilação de DNA em sua região promotora e estão relacionados a comorbidades da obesidade, como uma maior susceptibilidade de desenvolvimento de tumores, tais como caspase 8 (CASP8) e fator de crescimento semelhante à insulina proteína de ligação-3 (IGFBP3)^{32,33}, enquanto outros estão envolvidos em doenças metabólicas: coativador do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama 1 (PPARGC1)³⁴, autotolerância³⁵ e doenças cardiovasculares - hidroxisteroide (11-Beta) desidrogenase 2 (HSD11B2) e receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama 5 (PPARG5)^{34,36}.

Interessantemente, alguns genes obesogênicos apresentam um potencial papel no desenvolvimento da obesidade e processos relacionados sobretudo à adipogênese³⁷⁻³⁹, à inflamação^{35,40,41} e à sinalização insulínica⁴²⁻⁴⁴. Como já mencionado, a obesidade é caracterizada por uma inflamação subclínica devido a modificações no fenótipo de leucócitos⁹, aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias⁶ e maior infiltração dessas células imunes em tecidos metabolicamente ativos como o tecido adiposo, tecido musculoesquelético, tecido neural e hepático⁷. Neste contexto, a alteração na regulação epigenética de células mononucleares apresentam um papel principal na modificação do fenótipo e maior resposta pró-inflamatória⁷.

Diversos genes inflamatórios podem ser regulados por alterações epigenéticas⁴⁵. Tem sido descrito que alterações nos níveis de acetilação de histonas e metilação no tecido adiposo, tanto de DNA quanto de histonas, estão associadas a um estado aumentado de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , e adipocinas, como a leptina, nas quais a expressão é determinada pelo status epigenético em genes relevantes^{35,46}. Por outro lado, mulheres que apresentaram uma redução de tecido adiposo após implementação de dieta hipocalórica exibiram baixos níveis de metilação de DNA em genes inflamatórios⁴⁷. De fato, em um estudo com homens obesos, alterações epigenéticas em sítios citosina fosfato guanina (CpG) de *Wilms tumor 1* (WT1), um gene supressor de tumores, e *ATPase, Class V, Type 10A* (ATP10A) foram encontradas⁴⁸. Recentemente, Kim e colaboradores (2015)⁴⁹ demonstraram ainda que citocinas pró-inflamatórias ativam a enzima DNA metiltransferase 1 (DNMT1), responsável pela hipermetilação de DNA em genes anti-inflamatórios, estimulando a compactação da cromatina no gene promotor da adiponectina, uma importante adipocina anti-inflamatória, no tecido adiposo. Como consequência, ocorre a redução na expressão e produção de adiponectina,

Uma análise da abundância de ilhas CpG que sofrem alterações epigenéticas confirmam não só genes inflamatórios, mas também metabólicos e de adipogênese, que sofrem influências epigenéticas como metilação de DNA e acetilações de histonas⁵⁰. Assim, o controle metabólico e de adipogênese através da influência epigenética mostra-se alterado através de genes como o *Adiponectin, C1Q And Collagen Domain Containing* (ADIPOQ - gene da adiponectina, com acetilação e metilação de histonas)⁵⁰, metilação de DNA nos genes ácido graxo sintase (FASN), hidroxiaçil-coa desidrogenase (HADHB) e *NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 6* (NDUFB6). Todos estão relacionados à lipogênese⁵¹, metilação de DNA e acetilação de histonas dos genes da insulina (INS)⁵², do receptor de insulina (INSR)⁵² e IGF2⁵³, que também estão relacionados à homeostase da glicose.

Além disso, algumas proteínas fundamentais para o controle metabólico apresentam alterações epigenéticas em seus genes, tais

como a acetilação de histonas do GLUT4⁵⁴ e a metilação de DNA do gene do receptor de insulina⁵². Ainda sobre o receptor insulínico, dados recentes demonstram que alguns genes relacionados à sinalização insulínica como o caveolina 1 (CAV1)⁵⁵, o isoforma da subunidade catalítica gama fosfatidilinositol-4,5-bifosfato-3 kinase (PIK3CG)⁵⁶ e o fator de crescimento semelhante à insulina proteína de ligação-3 (IGFBP3)⁵⁷ apresentam um estado de hipermetilação tanto na obesidade quanto no carcinoma hepatocelular ou na progressão do câncer colorretal. Em conjunto, pode-se acreditar que essas alterações epigenéticas comuns na obesidade e em certos tipos de cânceres podem explicar a influência que o excesso de tecido adiposo exerce sobre o desenvolvimento acelerado de tumores⁵⁸.

O estado de metilação do DNA ainda influencia uma série de outros genes com papel da expansão do tecido adiposo⁵⁹. Curiosamente, alguns genes apresentam modificações no estado de metilação de DNA durante a senescência celular, como, por exemplo, os genes receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama (PPARG), lipase lipoproteica (LPL) e proteína de ligação de ácidos graxos 4 (FABP4), responsáveis pela captação e controle do metabolismo de lipídios no tecido adiposo³⁴. Já outros genes associados à adipogênese apresentam um estado de hipermetilação de DNA na obesidade e estão associados ao desenvolvimento de diversos tipos de tumores e cânceres, como, por exemplo, o gene receptor alfa do ácido retinóico (RARA)³², que apresenta associação com câncer de próstata e mamário; fosfatase homóloga à tensina (PTEN)⁶⁰, com papel no câncer colorretal e gliomas; inibidor de quinase dependente de ciclina 1 (ACDKN1A)⁶¹, que apresenta associação a diversos tipos de cânceres devido a metilações diversas em regiões promotoras.

3.3 MODIFICAÇÕES NO ESTILO DE VIDA PODEM ALTERAR A INFLUÊNCIA EPIGENÉTICA NA OBESIDADE?

Uma vez que a obesidade é um dos principais desafios de saúde pública, uma série de estudos tem tentado apontar diferentes estratégias com objetivo de induzir a um balanço calórico

negativo e, conseqüentemente, reduzir a massa corporal de indivíduos obesos⁶²⁻⁶⁴. No entanto, a modificação no estilo de vida não parece resultar efetivamente no emagrecimento em diversos casos, indicando que há fatores fisiológicos, bioquímicos e genéticos envolvidos nessa variabilidade interindividual⁶². Neste contexto, estudos recentes apontam para a existência de diversos marcadores epigenéticos capazes de modificar a expressão gênica estando envolvidos no sucesso, ou insucesso, de intervenções de emagrecimento e modificações de estilo de vida⁶⁵.

Para exemplificar, Huang e colaboradores (2015)⁶⁶ identificaram que dos 32 genes candidatos analisados para uma possível associação com a obesidade foram encontrados padrões de metilação de DNA diferenciais nos genes: fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), receptor 1 de rianodina (RYR1) e alfa tubulina-3C (TUBA3C). Outro estudo comparando indivíduos responsivos versus não responsivos a programas de emagrecimento identificou que a região promotora do TNF- α apresentou menores níveis de metilação, especialmente nas posições -170 pb e -120 pb em comparação a indivíduos que não emagreceram após oito semanas⁶⁷.

Intervenções como exercício físico, dietas e cirurgias para emagrecimento também apresentam importantes influências no perfil de metilação de DNA de diferentes tipos de tecidos humanos⁵⁹. Deste modo, o perfil de metilação de indivíduos obesos torna-se mais similar ao perfil encontrado em indivíduos eutróficos após cirurgia de redução de massa corporal⁶⁸. Apesar dessas evidências ainda estarem em recente investigação e necessitarem de um corpo de estudo com tamanhos amostrais maiores, os referidos dados sugerem que o perfil de metilação de DNA de pacientes obesos pode ser modificado a partir da redução de massa adiposa corporal. Além disso, pode-se supor que o estado de metilação em alguns casos parece estar muito mais relacionado ao fenótipo adquirido de obesidade do que a um marcador programado de indivíduos que apresentam predisposição a se tornarem obesos.

Uma série de estudos recentes procurou comparar o perfil de metilação de pessoas que apresentaram sucesso na perda de massa corporal durante intervenções em relação a pessoas que

não apresentaram o mesmo sucesso⁶⁹⁻⁷². Após os períodos de intervenção, diferenças de níveis de metilação entre os grupos foram identificadas em genes envolvidos no controle da adiposidade, insulina e metabolismo energético, inflamação e ritmo circadiano⁶⁹⁻⁷². Corroborando esses fatos, após seis meses de cirurgia gástrica *by-pass*, o nível de metilação na região promotora do gene PPARGC1 reduziu e do piruvato desidrogenase kinase-4 (PDK4) aumentou no tecido musculoesquelético de indivíduos obesos⁶⁸. Além disso, de 14 genes metabólicos analisados, a metilação de 11 genes de mulheres obesas foi semelhante aos níveis encontrados em mulheres eutróficas⁶⁸. Em conjunto, tais dados demonstram que modificações nos níveis de metilação de DNA de genes envolvidos nesses processos podem predispor indivíduos a um maior aumento de massa corporal bem como ao sucesso de intervenções.

Também foi reportado que níveis de metilação de DNA na região promotora de genes relacionados à leptina e TNF- α são sensíveis à redução do tecido adiposo após dieta hipocalórica⁴⁷. Neste sentido, Abu-Farha e colaboradores (2013)⁷³ demonstraram que doze semanas de treinamento combinado, utilizando-se exercícios de força e aeróbio, modificaram a expressão de 38 proteínas, analisadas através de técnicas de proteômica, em células mononucleares circulantes. Em especial, a enzima histona deacetilase 4 (HDAC4), responsável pela desacetilação de histonas, apresentou aumento após o período de intervenção. Além disso, a HDAC4 foi positivamente correlacionada com o consumo de oxigênio, um indicador de capacidade funcional, e inversamente correlacionada com o índice de massa corporal dos indivíduos obesos⁷³. É importante ressaltar que a HDAC4 apresenta um papel fundamental na ativação do fator nuclear kappa-B (NF-Kb)-dependente de TNF- α , de modo a estabelecer um *link* entre a atividade da HDAC4 e a regulação do sistema imune no que diz respeito ao desenvolvimento de um processo inflamatório⁷⁴. Assim, HDAC4 pode representar um potencial alvo terapêutico para o controle e manejo da obesidade. De modo semelhante, o grupo recentemente demonstrou que uma única sessão de exercício intervalado de alta intensidade foi capaz de aumentar a atividade global da enzima

HDAC em células mononucleares periféricas⁷⁵. Em comum, essas alterações na atividade global da HDAC ou especificamente da isoforma HDAC4 em leucócitos circulantes foram acompanhadas por aumento nos níveis circulantes de citocinas imunoreguladoras⁷⁵, como interleucina 10 (IL-10), e fator de transformação do crescimento-beta (TGF- β) ou na redução de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α ⁷⁴.

3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A obesidade é agora reconhecida como um problema de saúde pública em níveis epidêmicos, devendo ser tratada com educação e políticas públicas eficientes. Este capítulo demonstrou que a interação gene-ambiente é capaz de influenciar a regulação e a expressão de uma série de fatores envolvidos direta ou indiretamente à obesidade, sugerindo que a obesidade não é apenas uma simples conta de balanço calórico e sedentarismo. Por fim, apresentamos evidências de como tratamentos para o emagrecimento, seja por cirurgia, exercício físico ou dieta podem alterar e, em alguns casos, reverter diversos marcadores epigenéticos. E a partir de um maior conhecimento sobre os mecanismos epigenéticos associados à obesidade, intervenções poderão se tornar cada vez mais eficientes de acordo com o *background* genético de cada indivíduo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Finucane, MM et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants.. Lancet, p. 557-567. 2012.
2. WHO: Preventing Chronic Diseases: a Vital Investment: Geneva, World Health Organization, 2005.
3. Ford, ES; Mokdad, AH. Epidemiology of obesity in the western hemisphere. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 93 (11): s1-s8, 2008.
4. Bahia L, et al. The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study. BMC Public Health, 12:440-447, 2012.

5. Panagiotakos, DB et al. The implication of obesity and central fat on markers of chronic inflammation: The ATTICA Study. *Atherosclerosis*, 183: 308-315, 2005.
6. Smorlesi, A et al. The adipose organ: white-brown adipocyte plasticity and metabolic inflammation. *Obesity Reviews*, 13 (suppl. 2), 83-96, 2012.
7. Hotamisligil, GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444 (7121): 860-867, 2006.
8. Simonds, SE et al. Leptin mediates the increase in blood pressure associated with obesity. *Cell*, 159: 1404-1416, 2014.
9. Xu, H et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*, 112, 1821-1830, 2003.
10. Gao Z, et al. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex. *J Biol Chem*, 277 (50), 48115-48121, 2002.
11. Milagro FI, et al. Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: progresses and perspectives. *Mol Aspects Med*, 222: 1-9, 2011.
12. Dubois L, et al. Genetic and environmental contributions to weight, height, and BMI from birth to 19 years of age: an international study of over 12,000 twin pairs. *PlosOne* , 7: e30153, 2012.
13. Silventoinen K, et al. The genetic and environmental influences on childhood obesity: a systematic review of twin and adoption studies. *Int J Obes (Lond)*, 34: 29-40, 2010.
14. Dolinoy DC, et al. Environmental epigenomics in human health and disease. *Environ Mol Mutagen*, 49: 4-8, 2008.
15. Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell*, 128: 635-638, 2007.
16. Guénard, F. et al. Differential methylation in glucoregulatory genes of offspring born before vs. after maternal gastrointestinal bypass surgery. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 110: 11439–11444, 2013.
17. Parlee, S.D. and MacDougald, O.A. Maternal nutrition and risk of obesity in offspring: the Trojan horse of developmental plasticity. *Biochim. Biophys. Acta*, 1842: 495–506, 2014.
18. de Castro Barbosa, T. et al. High-fat diet reprograms the epigenome of rat spermatozoa and transgenerationally affects metabolism of the offspring. *Mol. Metab*, 5: 184–197, 2016.
19. Vickers MH. Developmental programming and adult obesity: the role of leptin. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 14: 17-22, 2007.
20. Huypens P, et al. Epigenetic germline inheritance of diet-induced obesity and insulin resistance. *Nat Gen*, 2016.

21. Tobi EW, et al. Prenatal famine and genetic variation are independently and additively associated with DNA methylation at regulatory loci within IGF2/H19. *PLoS One*; 7: e37933, 2012.
22. Heijmans BT, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*; 105: 17046–17049, 2008.
23. Stein AD, et al. Anthropometric measures in middle age after exposure to famine during gestation: evidence from the Dutch famine. *Am J Clin Nutr*; 85: 869–876, 2007.
24. Ravelli A, et al. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet*; 351: 173–177, 1998.
25. Luttmer R, et al. Metabolic syndrome components are associated with DNA hypomethylation. *Obes Res Clin Pract*, 7: e106-e115, 2013.
26. Peters J. The role of genomic imprinting in biology and disease: an expanding view. *Nat Rev Genetics*, 15: 517-530, 2014.
27. Moore GE, Oakey R. The role of imprinted genes in humans. *Genome Biol*, 12: 106, 2011.
28. Peidrahit JA. The role of imprinted genes in fetal growth abnormalities. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 91: 682-692, 2011.
29. Herrera BM, Keildson S, Lindgren CM. Genetics and epigenetics of obesity. *Maturitas*, 69: 41-49, 2011.
30. Shuldiner AR. Obesity genes and gene-environment-behavior interactions: recommendations for a way forward. *Obesity (Silver Spring)*, 16:s79-s81, 2008.
31. Apalasy D, Mohamed Z. Obesity and genomics: role of technology in unraveling the complex genetic architecture of obesity. *Hum Genet*, 134: 361-374, 2015.
32. Roupret M, et al. Promoter hypermethylation in circulating blood cells identifies prostate cancer progression. *Int J Cancer*, 122: 952-956, 2008.
33. Lazcoz P, et al. Frequent promoter hypermethylation of RASSF1A and CASP8 in neuroblastoma. *BMC Cancer*, 6:254, 2006.
34. Noer A, et al. Dynamics of adipogenic promoter DNA methylation during clonal culture of human adipose stem cells to senescence. *BMC Cell Biol*, 8: 18, 2007.
35. Sullivan KE, et al. Epigenetic regulation of tumor necrosis factor alpha. *Mol Cell Biol*, 27: 51475160, 2007.
36. Alikhani-Koopaei R, et al. Epigenetic regulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression. *J Clin Invest*, 114: 1146-1157, 2004.
37. Ling C, et al. Epigenetic regulation of PPARGC1A in human type 2 diabetic islets and effect on insulin secretion. *Diabetologia*, 51: 615-622, 2008.

38. Noer A, et al. Dynamics of adipogenic promoter DNA methylation during clonal culture of human adipose stem cells to senescence. *BMC Cell Biol*, 8:18, 2007.
39. Milagro FI, et al. High fat diet-induced obesity modifies the methylation pattern of leptin promoter in rats. *J Physiol Biochem*, 65: 1-9, 2009.
40. Jiang Y, et al. Homocysteine-induced extracellular superoxide dismutase and its epigenetic mechanisms in monocytes. *J Exp Biol*, 211: 911-920, 2008.
41. Martinez JA, et al. Interplay of early-life nutritional programming on obesity, inflammation and epigenetic outcomes. *Proc Nutr Soc*, 71: 276-283, 2012.
42. Sasaoka T, et al. Lipid phosphatases as a possible therapeutic target in cases of type 2 diabetes and obesity. *Pharmacol Ther*, 112: 799-809, 2006.
43. Bacos K, et al. Blood-based biomarkers of age-associated epigenetic changes in human islets associate with insulin secretion and diabetes. *Nat Commun*, 7:11089, 2016.
44. Pietilainen KH, et al. DNA methylation and gene expression patterns in adipose tissue differ significantly within young adult monozygotic BMI-discordant twin pairs. *Int J Obes (Lond)*, 40: 654-661, 2016.
45. Obata Y, Furusawa Y, Hase K. Epigenetic modifications of the immune system in health and disease. *Immunol and Cell Biol*, 2015.
46. Yun JM, et al. Epigenetic regulation of high glucose-induced proinflammatory cytokine production in monocytes by curcumin. *J Nutr Biochem*, 22: 450-458, 2011.
47. Cordero P, et al. Leptin and TNF-alpha promoter methylation levels measured by MSP could predict the response to a low-calorie diet. *J Physiol Biochem*, 67: 463-470, 2011.
48. Milagro FI, et al. A dual epigenomic approach for the search of obesity biomarkers: DNA methylation in relation to diet-induced weight loss. *FASEB Journal*, 25: 1378-1389, 2011.
49. Kim AY, et al. Obesity-induced DNA hypermethylation of the adiponectin gene mediates insulin resistance. *Nat Commun*, 6:7585, 2015.
50. Sakurai N, et al. Modifications of histone h3 at lysine 9 in the adiponectin gene in 3t3-L1 adipocytes. *J Nutr Sci Vitaminol*, 55: 131-138, 2009.
51. Lomba A, et al. Weight gain induced by an isocaloric pair-fed high fat diet: a nutrigenetic study on FASN and NDUF6 gene promoters. *Mol Genet Metab*, 101: 273-278, 2010.
52. Kuroda A, et al. Insulin gene expression is regulated by dna methylation. *PlosOne*, 4:e6953, 2009.

53. Gong L, Pan YX, Chen H. Gestational low protein diet in the rat mediates Igf2 gene expression in male offspring via altered hepatic DNA methylation. *Epigenetics*, 5: 619-626, 2010.
54. Zheng SS, Rollet M, Pan YX. Maternal protein restriction during pregnancy induces CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP beta) expression through the regulation of histone modification at its promoter region in female offspring rat skeletal muscle. *Epigenetics*, 6: 161170, 2011.
55. Hirasawa Y, et al. Methylation status of genes upregulated by demethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine in hepatocellular carcinoma. *Oncology*, 71: 77-85, 2006.
56. Semba S, et al. Down-regulation of PIK3CG, a catalytic subunit of phosphatidylinositol 3-OH kinase, by CpG hypermethylation in human colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res*, 8: 3824-3831, 2002.
57. Chang YS, et al. Correlation between insulin-like growth factory-binding protein 3 promoter methylation and prognosis of patients with stage I non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*, 8: 3669-3675, 2002.
58. Paul B, et al. Influences of diet and the gut microbiome on epigenetic modulation in cancer and other diseases. *Clin Epigenetics*, 7:112, 2015.
59. van Dijk SJ, et al. Epigenetics and human obesity. *Int J of Obes*, 39: 85-97, 2015.
60. Goel A, et al. Frequent inactivation of PTEN by promoter hypermethylation in microsatellite instability-high sporadic colorectal cancers. *Cancer Res*, 64: 3014-3021, 2004.
61. Majid S, et al. Genistein induces the p21 WAF1/CIP1 and p16NK4a tumor suppressor genes in prostate cancer cells by epigenetic mechanisms involving active chromatin modification. *Cancer Res*, 68: 2736-2744, 2008.
62. Rabkin SW, Campbell H. Comparison of reducing epicardial fat by exercise, diet or bariatric surgery weight loss strategies: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*, 16: 406-415, 2015.
63. Franz MJ, et al. Lifestyle weight-loss intervention outcomes in overweight and obese adults with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J Acad Nutr Diet*. 115: 1447-1463, 2015.
64. Kritchevsky SB, et al. Intentional weight loss and all-cause mortality: a meta-analysis of randomized clinical trials. *PLoS One*, 10: e0121993, 2015.
65. Goni L, et al. Future Perspectives of Personalized Weight Loss Interventions Based on Nutrigenetic, Epigenetic, and Metagenomic Data. *J Nutr*, 2016.
66. Huang YT, et al. Epigenetic patterns in successful weight loss maintainers: a pilot study. *Int J Obes (Lond)*, 39: 865-868, 2015.
67. Campión J, et al. TNF-alpha promoter methylation as a predictive biomarker for weight-loss response. *Obesity (Silver Spring)*, 17: 1293-1297, 2009.

68. Barres R, et al. Weight loss after gastric bypass surgery in human obesity remodels promoter methylation. *Cell Rep*, 3: 1020-1027, 2013.
69. Milagro FI, et al. CLOCK, PER2 and BMAL1 DNA methylation: association with obesity and metabolic syndrome characteristics and monounsaturated fat intake. *Chronobiol Int*, 29: 11801194, 2012.
70. Milagro FI, et al. A dual epigenomic approach for the search of obesity biomarkers: DNA methylation in relation to diet-induced weight loss. *FASEB J*, 25: 1378-1389, 2011.
71. Moleres et al. Differential DNA methylation patterns between high and low responders to a weight loss intervention in overweight or obese adolescents: the EVASYON study. *FASEB J*, 27: 25042512, 2013.
72. Boucharad L, et al. Differential epigenomic and transcriptomic responses in subcutaneous adipose tissue between low and high responders to caloric restriction. *Am J Clin Nutr*, 91: 308-321, 2010.
73. Abu-Farha M, et al. Proteomics Analysis of Human Obesity Reveals the Epigenetic Factor HDAC4 as a Potential Target for Obesity. *PLoSOne*, 8:e7534, 2013.
74. Bendinelli P, et al. NF-kappaB activation, dependent on acetylation/deacetylation, contributes to HIF-1 activity and migration of bone metastatic breast carcinoma cells. *Mol Cancer Res*, 7: 1328-1341, 2009.
75. Dorneles GP, et al. High intensity interval exercise enhances the global HDAC activity in PBMC and anti-inflammatory cytokines of overweight-obese subjects. *Obesity Medicine*, 2: 25-30, 2016.

4. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NAS DOENÇAS RESPIRATÓRIAS

*Ivy Reichert Vital da Silva
Gustavo Pereira Reinaldo
Viviane Rostirola Elsner*

Nas doenças respiratórias, as vias aéreas são expostas não somente aos poluentes externos como também ao estresse celular gerado pelo processo inflamatório e pela resposta imunológica. Este estresse pode acarretar alterações no epigenoma, o que consequentemente impacta na etiologia e na progressão das referidas enfermidades. Ainda, tem sido descrito que a exposição intrauterina e pós-natal, como o tabagismo, afeta diretamente a severidade do quadro clínico dessas doenças, o que também está associado à alteração de marcadores epigenéticos¹.

Este capítulo elucidará os mecanismos epigenéticos vinculados à fisiopatologia e progressão de duas importantes doenças respiratórias crônicas: a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) e a Asma. Vale ressaltar que ambas apresentam sintomatologia e fisiopatologia semelhantes, sendo caracterizadas por obstrução ao fluxo aéreo. Contudo, em indivíduos com DPOC, na maioria das vezes, essa obstrução é irreversível enquanto que em asmáticos, isso ocorre em resposta à exposição a alérgenos, sendo a crise, normalmente, reversível com a retirada do fator causador.

4.1 DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA (DPOC)

A DPOC vem se tornando uma doença de impacto global, apresentando uma prevalência superior a 10% no mundo². A Organização Mundial de Saúde (OMS)³ tem demonstrado que a DPOC causa aproximadamente três milhões de mortes/ano, representando uma das principais causas de mortalidade e mor-

bilidade nos dias de hoje. A OMS prevê que no ano de 2030 a mortalidade por DPOC passará de quarto lugar no ranking de morte por todas as causas para a terceira posição, vindo logo atrás de outras patologias como a doença arterial coronariana e o acidente vascular encefálico⁴. Assim, o estudo dos aspectos etiológicos e fisiopatológicos da doença bem como estratégias preventivas e terapêuticas para a DPOC são essenciais.

Sabe-se que a exposição ao tabaco é o principal fator de risco associado ao desenvolvimento da patologia; porém, diversos outros fatores são causas importantes e preveníveis da doença⁵. Conforme a Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia⁶, o desenvolvimento da DPOC se dá através de alguns fatores de risco específicos, classificados em dois grupos: os fatores externos e os individuais, conforme observado na tabela 1.

Fatores externos	Fatores individuais
Tabagismo	Deficiência de glutathione transferase
Exposição à poeira ocupacional	Deficiência de alfa-1 antitripsina e
Produtos químicos	alfa-1 antiqumotripsina
Fumaça e infecções respiratórias graves na infância	Hiper-responsividade brônquica
Condição socioeconômica	Desnutrição
	Prematuridade

Tabela 1. Fatores de risco para o desenvolvimento da DPOC.

No perfil fisiopatológico da DPOC, pode-se observar que o sistema surfactante é demasiadamente afetado pela destruição do parênquima pulmonar, dificultando, desta forma, que as trocas gasosas ocorram. Sendo assim, existe a perda da elasticidade pulmonar, ensejando um acúmulo de secreção e exsudato inflamatório. Esse quadro acarreta na obstrução do fluxo aéreo e, conseqüentemente, aumenta a capacidade residual funcional, ocasionando um quadro de hiperinsuflação pulmonar e piorando a relação tensão/comprimento muscular diafragmático. Isto causa importante declínio da capacidade muscular de gerar força⁷. Além da disfunção respiratória, ocorrem comprometimentos em outros órgãos como: ossos, sistema cardiovascular e músculo esquelético⁸. A disfunção muscular de membros inferiores atin-

ge aproximadamente um terço dos pacientes mesmo em fases precoces da patologia quando a obstrução das vias aéreas ainda não é considerada grave, o que pode contribuir para o comprometimento da capacidade funcional e estilo de vida sedentários desses indivíduos⁹.

Em nível molecular, evidencia-se a ativação de células inflamatórias¹⁰ e de marcadores epigenéticos¹¹. Especificamente, observa-se alteração dos níveis de metilação do ácido desoxirribonucleico (DNA) e redução dos níveis de acetilação de histonas em diversos tecidos como o pulmonar, sangue periférico e músculo esquelético, conforme será abordado a seguir.

Alterações nos níveis de metilação de DNA são observadas em tecido pulmonar de pacientes com DPOC¹². Um perfil de hipermetilação em alguns *loci* e hipometilação em outros é constatado nesses pacientes, o que está associado à diminuição da transcrição de genes protetores e ao aumento da transcrição de genes promotores dessa doença, levando a um prognóstico mais negativo. Assim, a hipermetilação das ilhas citosina fosfato guanina (CpG) visa estabelecer um antagonismo entre uma via protetora e uma via promotora da patologia da DPOC¹³. A hipometilação do gene promotor de histona deacetilase 6 (HDAC6), por exemplo, determina um aumento da expressão de HDAC6 em macrófagos alveolares. Esse processo contribui para a disfunção epitelial mediada pelo cigarro, através da promoção de autofagia¹⁴.

Além disso, a fumaça de cigarro pode estar associada a alterações na expressão de DNA metiltransferases (DNMTs) e a modificações na metilação de ilhas CpG na estrutura dinâmica do DNA em pacientes com DPOC, participando diretamente da piora do quadro clínico¹³. A hipermetilação de genes específicos, como fator de coagulação II (trombina) receptor-*like* 3 (F2RL3) e receptor 15 acoplado à proteína G (GPR15), mostrou estar associada não só ao tabagismo atual, mas também ao tempo de dependência do cigarro, apresentando relação dose resposta¹⁵. Ainda, foi relatado que o tabagismo diminuiu a expressão de genes protetores. Tsaprouni et al. (2014)¹⁶ relataram uma hipometilação de DNA em sangue periférico, a qual foi apenas parcialmente reversível após

a cessação do tabagismo, sugerindo que o cigarro induz a alterações reversíveis em marcadores epigenéticos nessa população.

Chen e colegas (2012)¹⁷ observaram que pacientes com carga tabágica maior que 40 maços-ano apresentaram maior atividade da enzima HDAC quando comparados a indivíduos com menos de 40 maços-ano. Com isso, foi estabelecida uma correlação positiva entre a atividade da HDAC e o tabagismo em pacientes com DPOC. Assim, evidencia-se que o tabagismo é um importante modulador de marcadores de acetilação de histonas e metilação de DNA em indivíduos com DPOC.

O tabagismo e o estresse oxidativo diminuem também a atividade da enzima HDAC2 em macrófagos presentes em tecido pulmonar¹⁸, o que promove a persistência do processo inflamatório em pacientes com DPOC¹⁹ devido à diminuição de citocinas anti-inflamatórias e ao aumento das pró-inflamatórias. Neste sentido, a redução da expressão de HDAC aumenta a acetilação global do gene promotor da interleucina 8 (IL-8), a qual apresenta atividade pró-inflamatória. Esse perfil molecular contribui para a resistência à terapia farmacológica com corticosteroides e está diretamente ligado à gravidade da doença e evolução do quadro clínico²⁰.

Alguns estudos têm sugerido que pacientes com DPOC, independentemente do tabagismo atual, possuem a atividade da HDAC diminuída em macrófagos alveolares, e esta condição se encontra relacionada com a gravidade das limitações do fluxo aéreo²¹. Esses achados corroboram os de Marwick (2004) que observaram, em macrófagos alveolares de tabagistas, uma redução da atividade da HDAC e na expressão da HDAC2, estando diretamente relacionada com o aumento da liberação de citocinas inflamatórias como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e IL-8²².

Modificações epigenéticas no gene guanina-adenina-timina-adenina 4 (GATA 4), que se encontra associado com a função e o desenvolvimento do sistema cardiopulmonar, também foi relacionado com o estado de saúde geral de pacientes com DPOC. Em um estudo experimental, foi observado que camundongos com deficiência nesse gene específico morrem no útero devido às anormalidades significativas na formação do sistema cardio-

vascular²³. Em estudo com humanos, foi descrito que o GATA 4 é fundamental para o desenvolvimento dos lobos pulmonares²⁴. Por outro lado, a mutação desse gene específico está associada com disfunções cardíacas congênitas e insuficiência das valvas cardíacas²³. Outro estudo mostrou que os pacientes com DPOC apresentam metilação do gene GATA 4, indicando uma redução na sua transcrição e expressão quando comparado com o grupo controle. Desta forma, os autores sugerem que o estado de metilação do gene GATA 4 pode ser um preditivo para avaliar o estado de saúde dos pacientes com DPOC²⁵.

Como já comentado, a disfunção muscular esquelética é uma manifestação sistêmica presente na maioria dos pacientes com DPOC, principalmente em estágios mais avançados da patologia. Neste contexto, um estudo recente mostrou um aumento significativo nos níveis da HDAC4 em músculo vasto lateral de pacientes com essa doença²⁶.

4.2 ASMA

A asma é uma doença com alta incidência na população em geral, acometendo principalmente os indivíduos em fases iniciais de suas vidas, configurando um sério problema de saúde pública. De acordo com *The Global Asthma Report* (2014)²⁷, a prevalência dessa condição clínica apresentou um aumento de 235 para 334 milhões entre os anos de 2011 e 2014. Mundialmente, a sua prevalência varia de 1 a 18% em média, sendo diferente entre os países, devido à diversidade de variações geográficas e demográficas²⁸,²⁹. No Brasil, existem escassos trabalhos na literatura relatando a prevalência da asma em crianças. Em estudo recente realizado com crianças em fase escolar em algumas regiões brasileiras como Sul e Sudeste, destaca-se a cidade de Porto Alegre, no Rio Grande Sul, apresentando uma prevalência de 21,9% no grupo de adolescentes entre 13 e 14 anos³⁰⁻³³.

Na maioria dos casos, o início dos primeiros sintomas da doença ocorre antes dos 5 anos de vida, com prevalência maior no sexo masculino (relação 2:1). Já em adultos, essa prevalência tem

tido um aumento nos últimos anos, estimando-se entre 5 e 10%, principalmente em países industrializados^{28, 29, 34}. Isso ilustra a necessidade de um diagnóstico diferencial de forma a permitir uma intervenção o mais precocemente possível. Assim, o conhecimento acerca dos mecanismos fisiopatológicos da doença bem como as estratégias preventivas e terapêuticas para a asma são de grande importância para o manejo e as decisões frente ao seu tratamento.

Numerosas exposições pré-natais, como a asma materna ou atópica, desnutrição ou a obesidade gestacionais, estresse materno durante a gravidez e a exposição a poluentes possuem forte influência sobre futuras doenças respiratórias, tanto para o feto quanto para a mãe. Entre esses, o tabagismo materno durante a gravidez é um dos fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento da função pulmonar prejudicada e risco de asma³⁵⁻³⁷. Já está elucidado que a asma infantil implica um aumento em vinte vezes do risco de obstrução do fluxo aéreo quando adulto³⁸.

A fisiopatologia da asma é complexa e caracterizada pela obstrução variável das vias aéreas, a qual é ocasionada pela hiper-reatividade brônquica, edema e inflamação das mesmas. Vale ressaltar que tal condição é centrada em dois aspectos: a inflamação e a remodelação das vias³⁹. A inflamação das vias aéreas é um fator importante no desenvolvimento do quadro asmático. A presença de edema e o acúmulo de secreção contribuem para a obstrução das vias, acarretando na hiper-reatividade brônquica e dificultando a passagem de ar. Os alérgenos, nas vias aéreas, ativam o aparecimento de mediadores inflamatórios provenientes dos macrófagos e demais células⁴⁰, o que, juntamente com alterações dos níveis de marcadores epigenéticos, contribuem para o início e a evolução do quadro clínico¹¹. Especificamente, observa-se alteração dos níveis de metilação do DNA e na atividade/concentração nas enzimas histona acetiltransferase (HAT) e HDAC evidenciadas principalmente em tecido pulmonar.

Foi mostrado, em um estudo de coorte com 157 crianças com idade entre 2 e 10 anos, que o manuseio de animais bem como a exposição à fumaça de cigarro aumentam os níveis de metilação de DNA no marcador CD14 (glicoproteína). Isso explica, em

parte, o entendimento das divergentes associações de alelos do marcador CD14 e sua relação com doenças alérgicas detectadas em diferentes ambientes através da modulação epigenética⁴¹.

Em alguns doentes asmáticos graves, as células mononucleares do sangue periférico perdem plasticidade fenotípica, não conseguindo responder de forma adequada aos corticosteroides. Essa resistência ao uso de corticosteroides inalados tem sido associada ao aumento da expressão do fator de crescimento de colônias de macrófagos e granulócitos (GM-CSF) e liberação de citocinas pró-inflamatórias, como o interferon-gama (IFN- γ), parcialmente devido à desregulação entre as concentrações de histona acetiltransferase (HAT) e HDAC⁴². Desta forma, assim como ocorre na DPOC, o tratamento da asma com corticoesteroides modula marcadores epigenéticos.

A atividade da HDAC também é atribuída à resistência de fibroblastos pulmonares, percebida em patologias pulmonares fibróticas apoptóticas, tais como fibrose pulmonar intersticial e asma⁴³, o que possivelmente leva a uma diminuição da expressão de genes protetores.

A função da HDAC1 é essencial para que ocorra uma reparação e remodelação do epitélio das vias aéreas, bem como para o crescimento de células epiteliais, associando-se com a evolução do quadro clínico para asma grave uma vez que a atividade dessa enzima se encontra relacionada com a resistência a fármacos esteróides⁴⁴. O aumento e a remodelação do epitélio das vias aéreas estão associados com a gravidade da patologia, sendo constatada uma intensidade de sua atividade em pacientes com asma grave em comparação a pacientes com asma moderada⁴⁵. Sendo assim, a atividade da HDAC1 pode representar um importante biomarcador para distinguir a severidade dessa condição clínica.

A atividade da HAT também é alterada em tecido pulmonar de asmáticos. Esta se encontra aumentada tanto em biópsias pulmonares de adultos⁴⁶ quanto em crianças⁴⁷. Com base nesses achados, evidencia-se que o desequilíbrio HAT/HDAC está vinculado à gravidade e intensidade dos sintomas da asma previamente descritos^{42, 48, 49}.

4.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A modulação epigenética se encontra envolvida nos principais eventos respiratórios. Até o momento, existem relatos significativos da contribuição epigenética na alteração da expressão de genes específicos relacionados com a resposta imunológica, o que está associado ao processo inflamatório característico das duas condições clínicas abordadas anteriormente.

Compreender as alterações na maquinaria epigenética, suas interações e alterações utilizando abordagens de pesquisa translacional pode ser sugerido como um importante contribuinte para a melhor compreensão da fisiopatologia de doenças de vias aéreas como a asma e DPOC. Espera-se que, em um futuro próximo, o uso desses biomarcadores possa ser amplamente explorado nessas doenças, apontando para um melhor manejo e diagnóstico precoce das referidas patologias. Estes achados poderão direcionar novas abordagens preventivas e terapêuticas para populações atingidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bergougnoux A, Claustres M, De Sario A (2015) Nasal epithelial cells: a tool to study DNA methylation in airway diseases. *Epigenomics* 7(1):119-26.
2. Buist A, McBurnie M, Vollmer W, Gillespie S, Burney P, Mannino D, et al. (2007) International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study. *Respiration* 79:160-74.
3. WHO. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD). 2015.
4. WHO. The global burden of disease. 2004.
5. Diaz-Guzman E, Mannino D (2014) Epidemiology and prevalence of chronic obstructive pulmonary disease. *Clinics in Chest Medicine* 35(1):7-16.
6. SBPT. II Consenso Brasileiro sobre Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* [Internet]. 2004; 30(5).
7. ROSA E, PEREIRA C (1992) Dispneia e achados funcionais em portadores de DPOC nutridos e desnutridos. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 8(3):101-4.
8. Vestbo J, Hurd S, Agustí A, Jones P, Vogelmeier C, Anzueto A, et al. (2013) Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *American journal of respiratory and critical care medicine* 187(4):347-65.

9. Seymour JM, Spruit MA, Hopkinson NS, Natanek SA, Man WD, Jackson A, et al. (2010) The prevalence of quadriceps weakness in COPD and the relationship with disease severity. *The European respiratory journal* 36(1):81-8.
10. Calverley P, Walker P (2003) Chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 362:1053-61.
11. Comer BS, Ba M, Singer CA, Gerthoffer WT (2015) Epigenetic targets for novel therapies of lung diseases. *Pharmacology & therapeutics* 147:91-110.
12. Qiu W, Baccarelli A, Carey V, Boutaoui N, Bacherman H, Klanderman B, et al. (2012) Variable DNA methylation is associated with chronic obstructive pulmonary disease and lung function. *American journal of respiratory and critical care medicine* 185(4).
13. Lin R, Roychowdhury-Saha M, Black C, Watt AT, Marcusson EG, Freier SM, et al. (2011) Control of RNA processing by a large non-coding RNA over-expressed in carcinomas. *FEBS letters* 585(4):671-6.
14. Lam HC, Cloonan SM, Bhashyam AR, Haspel JA, Singh A, Sathirapongsasuti JF, et al. (2013) Histone deacetylase 6-mediated selective autophagy regulates COPD-associated cilia dysfunction. *The Journal of clinical investigation* 123(12):5212-30.
15. Zhang Y, Yang R, Burwinkel B, Breitling LP, Brenner H (2014) F2RL3 methylation as a biomarker of current and lifetime smoking exposures. *Environmental health perspectives* 122(2):131-7.
16. Tsaprouni LG, Yang TP, Bell J, Dick KJ, Kanoni S, Nisbet J, et al. (2014) Cigarette smoking reduces DNA methylation levels at multiple genomic loci but the effect is partially reversible upon cessation. *Epigenetics* 9(10):1382-96.
17. Chen Y, Huang P, Ai W, Li X, Guo W, Zhang J, et al. (2012) Histone deacetylase activity is decreased in peripheral blood monocytes in patients with COPD. *Journal of inflammation* 9(10).
18. Barnes P, Ito K, Adcock I (2004) Corticosteroid resistance in chronic obstructive pulmonary disease: inactivation of histone deacetylase. *Lancet* 363(9410):731-3.
19. Kersul A, Iglesias A, Ríos Á, Noguera A, Forteza A, Serra E, et al. (2011) Molecular Mechanisms of Inflammation During Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Archivos de bronconeumologia* 47(4):176-83.
20. Robison A, Nestler E (2011) Transcriptional and epigenetic mechanisms of addiction. *Nat Rev Neurosci* 12(11):623-37.
21. Barnes P (2009) Role of HDAC2 in the pathophysiology of COPD. *Annual review of physiology* 71:451-64.
22. Marwick JA, Kirkham PA, Stevenson CS, Danahay H, Giddings J, Butler K, et al. (2004) Cigarette smoke alters chromatin remodeling and induces proinflammatory genes in rat lungs. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 31(6):633-42.

23. Kuo CT, Morrisey EE, Anandappa R, Sigrist K, Lu MM, Parmacek MS, et al. (1997) GATA4 transcription factor is required for ventral morphogenesis and heart tube formation. *Genes & development* 11(8):1048-60.
24. Ackerman KG, Wang J, Luo L, Fujiwara Y, Orkin SH, Beier DR (2007) Gata4 is necessary for normal pulmonary lobar development. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 36(4):391-7.
25. Meek PM, Sood A, Petersen H, Belinsky SA, Tesfaigzi Y (2015) Epigenetic change (GATA-4 gene methylation) is associated with health status in chronic obstructive pulmonary disease. *Biological research for nursing* 17(2):191-8.
26. Barreiro E, Gea J (2015) Epigenetics and muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine* 165(1):61-73.
27. The Global Asthma Report 2014. New Zealand: Global Asthma Network; 2014.
28. Barnes PJ, Woolcock AJ (1998) Difficult asthma. *The European respiratory journal* 12(5):1209-18.
29. Global strategies for asthma [Internet]. 2009. Available from: www.ginasthma.org.
30. ISAAC (1998) Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *The European respiratory journal* 12(2):315-35.
31. De Britto MC, Bezerra PG, Ferreira OS, Maranhao IC, Trigueiro GA (2000) Asthma prevalence in schoolchildren in a city in north-east Brazil. *Annals of tropical paediatrics* 20(2):95-100.
32. Werneck G, Ruiz S, Hart R, White M, Romieu I (1999) Prevalence of asthma and other childhood allergies in Brazilian schoolchildren. *The Journal of asthma: official journal of the Association for the Care of Asthma* 36(8):677-90.
33. Sole D, Yamada E, Vana AT, Werneck G, Solano de Freitas L, Sologuren MJ, et al. (2001) International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): prevalence of asthma and asthma-related symptoms among Brazilian schoolchildren. *Journal of investigational allergology & clinical immunology* 11(2):123-8.
34. Chatkin MN, Menezes AMB (2005) Prevalência e fatores de risco para asma em escolares de uma coorte no Sul do Brasil. *Jornal de Pediatria* 81:411-6.
35. Upton MN, Smith GD, McConnachie A, Hart CL, Watt GC (2004) Maternal and personal cigarette smoking synergize to increase airflow limitation in adults. *American journal of respiratory and critical care medicine* 169(4):479-87.
36. Upton MN, Watt GC, Davey Smith G, McConnachie A, Hart CL (1998) Permanent effects of maternal smoking on offsprings' lung function. *Lancet* 352(9126):453.
37. Svanes C, Omenaas E, Jarvis D, Chinn S, Gulsvik A, Burney P (2004) Parental smoking in childhood and adult obstructive lung disease: results from the European Community Respiratory Health Survey. *Thorax* 59(4):295-302.

38. Aanerud M, Carsin AE, Sunyer J, Dratva J, Gislason T, Jarvis D, et al. (2015) Interaction between asthma and smoking increases the risk of adult airway obstruction. *The European respiratory journal* 45(3):635-43.
39. Rozov T. *Doenças pulmonares em Pediatria*. 1 ed. São Paulo: Atheneu; 1999.
40. Lepori R. *Atlas Sistema Respiratorio*. Madri: ARS Medica; 2004. p. 180.
41. Munthe-Kaas MC, Bertelsen RJ, Torjussen TM, Hjorthaug HS, Undlien DE, Lyle R, et al. (2012) Pet keeping and tobacco exposure influence CD14 methylation in childhood. *Pediatric allergy and immunology: official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* 23(8):747-54.
42. Hew M, Bhavsar P, Torrego A, Meah S, Khorasani N, Barnes PJ, et al. (2006) Relative corticosteroid insensitivity of peripheral blood mononuclear cells in severe asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine* 174(2):134-41.
43. Kidd CD, Thompson PJ, Barrett L, Baltic S (2016) Histone Modifications and Asthma. *The Interface of the Epigenetic and Genetic Landscapes*. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 54(1):3-12.
44. Butler CA, McQuaid S, Taggart CC, Weldon S, Carter R, Skibinski G, et al. (2012) Glucocorticoid receptor beta and histone deacetylase 1 and 2 expression in the airways of severe asthma. *Thorax* 67(5):392-8.
45. Wang Y, Tian Y, Morley MP, Lu MM, Demayo FJ, Olson EN, et al. (2013) Development and regeneration of Sox2+ endoderm progenitors are regulated by a Hdac1/2-Bmp4/Rb1 regulatory pathway. *Developmental cell* 24(4):345-58.
46. Ito K, Caramori G, Lim S, Oates T, Chung KF, Barnes PJ, et al. (2002) Expression and activity of histone deacetylases in human asthmatic airways. *American journal of respiratory and critical care medicine* 166(3):392-6.
47. Su RC, Becker AB, Kozyrskyj AL, Hayglass KT (2008) Epigenetic regulation of established human type 1 versus type 2 cytokine responses. *The Journal of allergy and clinical immunology* 121(1):5763 e3.
48. Weiss ST, Van Natta ML, Zeiger RS (2000) Relationship between increased airway responsiveness and asthma severity in the childhood asthma management program. *American journal of respiratory and critical care medicine* 162(1):50-6.
49. Creighton MP, Cheng AW, Welstead GG, Kooistra T, Carey BW, Steine EJ, et al. (2010) Histone H3K27ac separates active from poised enhancers and predicts developmental state. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(50):21931-6.

5. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NAS DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS

Karine Bertoldi

Ionara Siqueira

O aumento da expectativa de vida observado nas últimas décadas está relacionado a diversos fatores como os avanços na medicina e na tecnologia, assim como a uma melhora no saneamento básico. Em 2011, a Organização das Nações Unidas estimou um aumento considerável da população com mais de 60 anos de idade nas próximas décadas ¹.

Estima-se que o crescimento demográfico da população idosa será acompanhado pelo aumento de doenças crônicas relacionadas à idade. Ainda, o envelhecimento populacional implica em elevados gastos para a saúde pública. Portanto, estudos buscam um entendimento mais aprofundado tanto sobre o envelhecimento fisiológico quanto sobre suas patologias relacionadas, contribuindo para uma melhor qualidade de vida dessa parcela da população². Além disso, é importante destacar que o envelhecimento é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como a Doença de Parkinson (DP) e a Doença de Alzheimer (DA).

5.1 DOENÇA DE ALZHEIMER (DA)

A DA é caracterizada como uma desordem neurodegenerativa progressiva e irreversível, considerada a causa mais comum de demência. A DA envolve a perda neuronal de regiões específicas do cérebro, como o hipocampo e o córtex, levando ao declínio de diversas funções cognitivas, principalmente da memória.

A DA é normalmente classificada pela idade de início e pelo estado genético, podendo ser tanto esporádica quanto familiar. A forma esporádica é caracterizada por início tardio (idade > 65 anos) e representa em torno de 99% dos casos de Alzheimer. Já a forma familiar representa apenas cerca de 1% dos casos, possui um início em idade precoce (idade < 65 anos) e é relacionada a um componente genético que causa mutações nos genes que codificam a proteína precursora amiloide (APP) e as presenilinas 1 (PSEN1) e 2 (PSEN2)³.

Além da influência do fator genético, é importante ressaltar que diversos fatores ambientais como idade, gênero, trauma cerebral, hipertensão e diabetes podem influenciar no desenvolvimento da DA. Ainda, os fatores ambientais podem prevalecer ao componente genético, resultando em maior ou menor vulnerabilidade ao desenvolvimento da doença ⁴.

Embora diferentes polimorfismos e fatores de risco tenham sido associados ao desenvolvimento e à progressão da DA, os mecanismos responsáveis ainda não estão claramente elucidados. Neste contexto, os principais achados histopatológicos tanto da DA esporádica quanto da familiar são as placas amiloides observadas no espaço extracelular. Ainda, os emaranhados neurofibrilares intracelulares, formados pelo acúmulo de proteína tau fosforilada, também caracterizam a doença⁵. No entanto, a chamada “hipótese da cascata amiloide”, a partir da qual se afirma que a principal causa da DA seria o aumento do peptídeo β -amiloide ($A\beta$) e a formação de placas, continua sendo amplamente aceita e estudada. As placas amiloides são formadas através da agregação do $A\beta$, que é gerado a partir da clivagem da APP por dois grupos de enzimas β - e γ - secretases⁶.

A APP pode ser clivada por duas vias diferentes, uma amiloidogênica e outra não amiloidogênica, gerando produtos finais distintos. A via não amiloidogênica é representada por enzimas denominadas α -secretases. As enzimas candidatas à atividade de α -secretases são membros de uma família de metaloproteases (ADAM) incluindo ADAM9, ADAM10 e ADAM17 ou enzima conversora do fator de necrose tumoral-alfa (TACE) ⁷.

A via amiloidogênica é representada pela clivagem sequencial da APP por duas enzimas, β -secretase seguida da γ -secretase originando o peptídeo $A\beta^8$. A enzima β -secretase 1 (BACE1) é uma aspartil protease altamente expressa em neurônios e responsável pelo primeiro passo na clivagem da APP. Posteriormente, a clivagem é realizada por um complexo de proteínas que contém as presenilinas 1 e 2, entre outras, denominado γ -secretase⁹. Estudos sugerem que uma perda na homeostase da maquinaria responsável pela produção e pela remoção do peptídeo $A\beta$ levando ao seu acúmulo em algumas regiões cerebrais poderia exercer um papel fundamental no desenvolvimento e progressão da DA¹⁰.

Como descrito acima, a DA é uma patologia complexa que envolve tanto fatores genéticos quanto ambientais, além disso, um grande número de evidências sugere que fatores epigenéticos possuem um importante papel na fisiopatologia da doença¹¹.

Estudos recentes realizados em cérebros humanos *post mortem* afetados pela DA revelaram alterações em marcadores epigenéticos globais, incluindo metilação do DNA assim como modificações nas caudas de histonas^{12,13}.

A influência da metilação do DNA na DA já foi demonstrada em alguns trabalhos, no entanto existe certa dificuldade na realização desses estudos devido à natureza multifatorial e heterogênea da fisiopatologia da doença. Ainda, a metilação do DNA parece aumentar durante o envelhecimento, complicando os estudos de padrões epigenéticos durante a idade avançada assim como nos estágios precoces da DA.

A metilação do DNA está associada ao ciclo metionina-homocisteína, o qual é dependente de folato, e alguns estudos têm demonstrado que o metabolismo do folato está comprometido durante a DA. Portanto, níveis diminuídos de folato poderiam estar relacionados às alterações na metilação do DNA observadas em pacientes com DA¹¹.

Um trabalho realizado em tecidos cerebrais de pacientes com DA *post mortem* observou uma diminuição global da metilação do DNA¹². Além disso, alguns autores demonstraram uma hipometilação do promotor do gene da APP em pacientes com DA levando

ao aumento da expressão dessa proteína¹⁴. Um padrão anormal de metilação também foi observado por Iwata e colegas (2014)¹⁵ em células corticais cerebrais de pacientes com DA, associado a um aumento na expressão de APP e do microtúbulo associado à proteína tau (MAPT). Corroborando esses resultados, Tohgi e colegas (1999)¹⁶ demonstraram uma diminuição da metilação na região promotora do gene da APP em córtex cerebral humano envelhecido, resultados que podem estar associados com a maior suscetibilidade à DA em indivíduos com idade avançada.

Por outro lado, Barrachina e colegas (2009)¹⁷ não observaram nenhuma alteração significativa na metilação da região promotora de genes associados à DA, como a APP e a PSEN1, em diferentes estágios da doença. Embora os dados sejam controversos, a expressão do gene da APP parece ser regulada pela metilação, sugerindo um desequilíbrio nesse mecanismo epigenético relacionado à DA. Em relação às enzimas associadas ao desenvolvimento da DA, uma hipometilação do PSEN1, a qual codifica a presenilina 1, proteína que faz parte do complexo γ -secretase, pode levar ao aumento da expressão da enzima e o consequente aumento da formação do A β ¹⁸.

Ainda, evidências demonstram que o peptídeo A β pode induzir uma hipometilação global do DNA, enquanto que seus efeitos em genes específicos são mais complexos. Neste contexto, o gene da NEP, responsável por codificar a enzima neprilisina que está relacionada à remoção do peptídeo A β , parece estar hipermetilado sob a influência do A β reprimindo sua transcrição; portanto, essa interação entre A β e NEP pode representar um fator crucial para a patologia da DA¹⁹. Além disso, o depósito do peptídeo A β está associado aos processos inflamatórios e ao estresse oxidativo²⁰. Cabe descrever que o estado oxidativo e a inflamação já foram relacionados a alterações epigenéticas. Em córtex pré-frontal de pacientes com DA, foi demonstrada uma hipometilação da região promotora do fator nuclear kappa B (NF-kB) induzindo uma maior expressão deste fator pró-inflamatório²¹. Ainda, Gu e colegas (2013)²⁹ demonstraram que o estresse oxidativo causado por exposição de células ao peróxido de hidrogênio pode ocasionar um

desequilíbrio no balanço entre metilação e desmetilação do DNA em favor do estado de hipometilação causando um aumento da transcrição de genes da APP e BACE1 e o consequente aumento da produção de A β .

Desta forma, podemos sugerir que existe um importante ciclo vicioso entre modificações epigenéticas como a metilação anormal do DNA e suas consequentes alterações em diferentes mecanismos celulares levando tanto ao desenvolvimento quanto à progressão da DA.

Trabalhos investigando o papel da acetilação e metilação de histonas associado à DA foram realizados nos últimos anos. Neste contexto, Zhang e colegas (2012)²⁰ demonstraram que a acetilação de histonas é significativamente menor no lobo temporal de pacientes com DA comparados a controles envelhecidos. Além disso, Gu e colegas (2013)²² demonstraram que um desequilíbrio entre a acetilação e a desacetilação de histonas está associado à ativação de fatores de transcrição levando ao aumento na transcrição de genes relacionados à produção do peptídeo A β . Além disso, em outro estudo, níveis elevados de acetilação da H3 foram relacionados a uma maior expressão da BACE1 em células mononucleares de sangue periférico de pacientes com DA. Adicionalmente, neste mesmo estudo, a hiperacetilação da H3 foi relacionada a uma maior expressão de BACE1 em estágios avançados da patologia em camundongos transgênicos 3xTg-AD²³. Outro estudo demonstrou que o estresse oxidativo é capaz de diminuir a expressão do gene da neprilissina, enzima associada à remoção do A β , em cultura de células neuronais via aumento da metilação da H3 lisina 9 e redução da acetilação da H3²⁴.

Outros mecanismos epigenéticos como a atividade das enzimas acetiladoras (HATs) e desacetiladoras (HDACs) também foram analisados. Trabalhos recentes sugerem um envolvimento da HDAC nos prejuízos de memória associados à doença, uma vez que o bloqueio desse grupo de enzimas resulta em melhora cognitiva. Em relação ao papel das HDACs, um importante trabalho conduzido por Gräff e colaboradores (2012)²⁵ investigou o envolvimento da HDAC2 em um modelo animal de DA, os

camundongos CK-p25. Neste estudo, os autores encontraram um aumento significativo de HDAC2 em hipocampo e córtex pré-frontal enquanto que na amígdala, estrutura não afetada pela neurodegeneração nesse modelo animal, não foram observadas alterações na expressão da HDAC2. Além disso, as alterações no conteúdo de HDAC2 foram detectadas em diferentes estágios da doença em cérebro humano *post mortem* de indivíduos com DA esporádico, indicando que os efeitos deletérios da atividade da HDAC2 podem ocorrer em estágios iniciais da doença. Ainda, esses autores encontraram um perfil hipoacetilado de diferentes histonas e lisinas específicas, histona 2b lisina 5 (H2bK5), histona 3 lisina 14 (H3K14), histona 4 lisina 5 (H4K5) e histona 4 lisina 12 (H4K12). Portanto, parece existir uma correlação entre o aumento da HDAC2 e um estado de hipoacetilação levando à diminuição na expressão de genes relacionados ao aprendizado, memória e plasticidade sináptica. Além disso, o uso de inibidores da HDAC2 é capaz de normalizar a memória espacial, aumentar os marcadores de plasticidade sináptica restaurando os déficits comportamentais²⁶.

A metilação de histonas foi associada a alterações comportamentais na DA. Foi demonstrado um aumento na expressão do gene G9a em camundongos transgênicos 5XFAD, um modelo de DA, que pode ser um mecanismo associado aos déficits de memória observados neste modelo. A proteína G9a metila a histona 3 lisina 9 (H3K9) e foi demonstrado que a hipermetilação da H3K9 no gene do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) pode levar a uma diminuição na expressão do BDNF. Portanto, alterações como a hipermetilação da H3K9 e a consequente redução na expressão do BDNF podem estar relacionadas a déficits de memória²⁷.

5.2 DOENÇA DE PARKINSON (DP)

A doença de Parkinson (DP) é a segunda patologia neurodegenerativa mais prevalente, caracterizada por suas manifestações clínicas como tremores de repouso, bradicinesia, rigidez e distúrbios de marcha²⁸.

A DP esporádica corresponde à grande maioria dos casos da doença e, provavelmente, parece resultar de uma combinação de herança poligênica, exposições ambientais e complexas interações gene-ambiente. Além disso, aproximadamente 20% dos casos correspondem à forma familiar da doença. Apesar de vários genes relacionados à DP já terem sido identificados, alguns deles têm recebido maior atenção como, por exemplo, o sinucleína alfa (SNCA), o qual codifica a α -sinucleína e parece estar relacionado a uma forma familiar da doença²⁹.

A DP é caracterizada pela degeneração de neurônios dopaminérgicos na substância nigra *pars compacta* afetando a síntese de dopamina. Além da perda de neurônios dopaminérgicos, a presença de corpos de Lewy no mesencéfalo e no córtex cerebral parece estar relacionada aos danos cognitivos observados na doença. Os corpos de Lewy são proteínas citoplasmáticas nas quais se encontram altos níveis de α -sinucleína, que tem sido relacionada à fragmentação mitocondrial e morte neuronal³⁰.

Diversas evidências suportam a hipótese de que a DP é resultado de uma complexa interação entre anormalidades genéticas, toxinas ambientais, disfunção mitocondrial e vários outros processos celulares. Adicionalmente, nos últimos anos, as modificações epigenéticas foram identificadas como potenciais mediadores dos fatores ambientais relacionados à patogênese da DP.

Alterações epigenéticas parecem estar envolvidas na fisiologia da DP. Neste contexto, modificações em genes relacionados à α -sinucleína, proteína neurotóxica associada à DP, assim como alterações no ciclo metionina-homocisteína receberam grande atenção.

Diversas evidências sobre o papel da metilação na DP estão relacionadas ao desequilíbrio do ciclo metionina-homocisteína. Elevadas concentrações plasmáticas de homocisteína foram observadas em pacientes com DP e relacionadas a uma diminuição da metilação global nesses indivíduos³¹.

Além disso, estudos sugerem uma forte influência dos mecanismos epigenéticos sobre diferentes genes relacionados à DP como o SNCA. Uma correlação negativa entre a metilação do

intron 1 do SNCA, a expressão da α -sinucleína e a metilação deste gene está reduzida na substância nigra, putamen e córtex de pacientes com DP^{32,33}. Esses resultados reforçam a hipótese de que um aumento na produção de α -sinucleína pode ser resultado de um aumento na expressão de SNCA como consequência da hipometilação do seu gene³⁴. Nesta conjuntura, um estudo utilizando ácido desoxirribonucleico (DNA) de leucócitos isolado de sangue periférico demonstrou que os níveis de metilação nos sítios citosina fosfato guanina (CpG) do promotor do SNCA estavam diminuídos em pacientes com DP comparados aos controles. Estes resultados sugerem que o nível de metilação do DNA em leucócitos de sangue periférico poderia ser utilizado como potenciais biomarcadores não invasivos da DP³⁵.

Recentemente, alguns pesquisadores observaram uma redução nos níveis nucleares de DNA metiltransferase 1 (DNMT1) em cérebros de pacientes com DP *post mortem* e em cérebros de camundongos modelos de DP. A DNMT1 é uma enzima abundantemente expressa no cérebro adulto e localizada em sua maior parte no compartimento nuclear. Esses autores sugerem que a α -sinucleína é responsável pelo sequestro da DNMT1 do núcleo para o citoplasma, resultando em hipometilação global do DNA envolvendo ilhas CpG de SNCA e outros genes. Esses dados indicam que a alteração na localização da DNMT1 resultando em modificações epigenéticas cerebrais seria resultado de uma interação entre a própria enzima e a α -sinucleína³⁶. Apesar de a relação entre alterações epigenéticas, como a acetilação de histonas e a patofisiologia da DP, já estarem descritas utilizando métodos *in vitro* ou animais de laboratório, há poucos estudos avaliando tal interação em cérebros de pacientes com DP.

Estudos utilizando modelos animais geneticamente modificados, além de cultura de células, mostraram que a α -sinucleína nuclear pode interagir com histonas levando à inibição da sua acetilação. Neste contexto, um estudo conduzido em um modelo de DP, em *Drosophila*, demonstrou que a α -sinucleína nuclear pode se ligar a histonas e reduzir a acetilação da H3, efeito possível de ser revertido após a administração de um inibidor da HDAC (iHDAC)³⁷.

Diversos trabalhos têm observado uma interação entre α -sinucleína e HDACs, portanto, a utilização de diferentes iHDAC tem sido amplamente utilizada em modelos experimentais de DP demonstrando um efeito neuroprotetor aos efeitos neurotóxicos da α -sinucleína³⁷. Em um estudo conduzido por Outeiro e colegas (2007)³⁸, a inibição farmacológica da Sirtuína 2 (SIRT2), um membro da família das HDACs, foi capaz de recuperar o dano induzido pela toxicidade da α -sinucleína em modelo celular e experimental de DP. Além disso, um trabalho utilizando administração diária de um iHDAC, o ácido valproico (VPA), em um modelo animal de DP demonstrou significativa inibição da atividade da HDAC e aumento da acetilação da H3 em tecidos cerebrais resultando na prevenção da diminuição do marcador dopaminérgico tirosina hidroxilase e na redução dos níveis de α -sinucleína na substância nigra e estriado³⁹.

5.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como demonstrado ao longo deste capítulo, diversos trabalhos conduzidos tanto em modelos experimentais e em cultura de células quanto em tecidos cerebrais humanos foram capazes de demonstrar uma forte associação entre os mecanismos epigenéticos e as doenças neurodegenerativas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. Global health and aging: World Health Organization; 2011.
2. Bennett DA, Yu L, Yang J, Srivastava GP, Aubin C, De Jager PL. Epigenomics of Alzheimer's disease. *Translational Research*. 2015;165(1):200-20.
3. Bettens K, Brouwers N, Van Miegroet H, Gil A, Engelborghs S, De Deyn PP, Vandenberghe R, Van Broeckhoven C, Sleegers K K. Follow-up study of susceptibility loci for Alzheimer's disease and onset age identified by genome-wide association. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2010; 19(4), 1169-1175.
4. Millan MJ. The epigenetic dimension of Alzheimer's disease: causal, consequence, or curiosity. *Dialogues Clin Neurosci*, 2014; 16(3), 373-93.
5. Joachim CL & Selkoe DJ. The Seminal Role of [beta]-Amyloid in the Patho-

genesis of Alzheimer Disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 1992; 6(1), 7-34.

6. Selkoe DJ. Folding proteins in fatal ways. *Nature*, 2003; 426(6968), 900-904.

7. Buxbaum JD, Liu KN, Luo Y, Slack JL, Stocking KL, Peschon JJ, Johnson RS, Castner BJ, Cerretti

DP & Black, R. A. Evidence that tumor necrosis factor α converting enzyme is involved in regulated α -secretase cleavage of the Alzheimer amyloid protein precursor. *Journal of Biological Chemistry*, 1998; 273(43), 27765-27767.

8. Chow VW, Mattson MP, Wong PC, & Gleichmann M. An overview of APP processing enzymes and products. *Neuromolecular medicine*. 2010; 12(1), 1-12.

9. Bossy-Wetzel E, Schwarzenbacher R, & Lipton SA. Molecular pathways to neurodegeneration. 2004; 1-9.

10. Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V Munsell L, Kasten T, Morris JC, Yarasheski KE, Bateman

RJ., RJ. Decreased clearance of CNS β -amyloid in Alzheimer's disease. *Science*, 2010; 330(6012):1774-1774.

11. Coppedè F, & Migliore L. Evidence linking genetics, environment, and epigenetics to impaired DNA repair in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2010; 20(4), 953-966.

12. Chouliaras L, Mastroeni D, Delvaux E, et al Consistent decrease in global DNA methylation and hydroxymethylation in the hippocampus of Alzheimer's disease patients. *Neurobiol Aging*. 2013;34:2091-2099.

13. Zhang K, Schrag M, Crofton A, Trivedi R, Vinters H, Kirsch W. Targeted proteomics for quantification of histone acetylation in Alzheimer's disease, *Proteomics*. 2012; 12:1261-1268.

14. West RL, Lee JM, & Maroun LE. Hypomethylation of the amyloid precursor protein gene in the brain of an Alzheimer's disease patient. *Journal of Molecular Neuroscience*. 1995; 6(2), 141-146.

15. Iwata A, Nagata K, Hatsuta H, Altered CpG methylation in sporadic Alzheimer's disease is associated with APP and MAPT dysregulation. *Hum Mol Genet*. 2014;23:648-656.

16. Tohgi H, Utsugisawa K, Nagane Y, Yoshimura M, Genda Y, & Ukitsu M. Reduction with age in methylcytosine in the promoter region- 224- 101 of the amyloid precursor protein gene in autopsy human cortex. *Molecular brain research*. 1999; 70(2), 288-292.

17. Barrachina M, Ferrer I. DNA methylation of Alzheimer disease and tauopathy-related genes in postmortem brain. *J NeuropatholExpNeurol*. 2009; 68:880-891.

18. Scarpa S, Fusco A, D'Anselmi F, Cavallaro RA: Presenilin 1 gene silencing by Sadenosylmethionine: a treatment for Alzheimer disease? *FEBS Lett.* 2003; 541:145–148.
19. Chen KL, Wang SSS, Yang YY, Yuan RY, Chen RM, & Hu CJ. The epigenetic effects of amyloid β 1–40 on global DNA and neprilysin genes in murine cerebral endothelial cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 2009; 378(1), 57-61
20. Mucke L, & Selkoe DJ. Neurotoxicity of amyloid β -protein: synaptic and network dysfunction. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine.* 2012; 2(7), a006338.
21. Rao JS, Keleshian VL, Klein S, and Rapoport SI. Epigenetic modifications in frontal cortex from Alzheimer's disease and bipolar disorder patients. *Translational Psychiatry.* 2012; 2: e132.
22. Gu X, Sun J, Li S, Wu X, & Li L. Oxidative stress induces DNA demethylation and histone acetylation in SH-SY5Y cells: potential epigenetic mechanisms in gene transcription in A β production. *Neurobiology of aging.* 2013; 34(4), 1069-1079.
23. Marques SCF, Lemos R, Ferreira E, Martins M, De Mendonca A, Santana I, Outeiro TF, Pereira CM. Epigenetic regulation of BACE1 in Alzheimer's disease patients and in transgenic mice. *Neuroscience.* 2012; 220, 256-266.
24. Wang Z, Yang D, Zhang X, Li T, Li J, Tang Y, & Le W. Hypoxia-induced down-regulation of neprilysin by histone modification in mouse primary cortical and hippocampal neurons. *PLoS One.* 2011; 6(4), e19229.
25. Gräff J, Rei D, Guan JS, et al. An epigenetic blockade of cognitive functions in the neurodegenerating brain. *Nature.* 2012;483:222-226.
26. Ricobaraza A, Cuadrado-Tejedor M, Pérez-Mediavilla A, Frechilla D, Del Río J, García-Osta A. Phenylbutyrate ameliorates cognitive deficit and reduces tau pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Neuropsychopharmacology.* 2009;34:1721-1732.
27. Griñán-Ferré C, Sarroca S, Ivanova A, Puigoriol-Illamola D, Aguado F, Camins A, Sanfeliu O, Pallàs M. Epigenetic mechanisms underlying cognitive impairment and Alzheimer disease hallmarks in 5XFAD mice. *Aging.* 2016; 8(3).
28. Beal MF. Experimental models of Parkinson's disease, *Nat. Rev. Neuroscience.* 2001; 2:325–334.
29. Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, & Van Broeckhoven C. "Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update," *Human Mutation.* 2010; 31(7):763–780.
30. Moore DJ, West AB, Dawson VL, Dawson TM (2005) Molecular pathophysiology of Parkinson's disease. *Annu Rev Neuroscience.* 2005; 28: 57–8

31. Blandini F, Fancellu R, Martignoni E, Mangiagalli A, Pacchetti C, Samuele A, & Nappi G. Plasma homocysteine and l-dopa metabolism in patients with Parkinson disease. *Clinical chemistry*. 2001; 47(6), 1102-1104.
32. Jowaed A, Schmitt I, Kaut O, & Wüllner U. Methylation regulates alpha-synuclein expression and is decreased in Parkinson's disease patients' brains. *The Journal of Neuroscience*. 2010; 30(18), 6355-6359.
33. Matsumoto L, Takuma H, Tamaoka A, Kurisaki H, Date H, Tsuji S, & Iwata A. CpG demethylation enhances alpha-synuclein expression and affects the pathogenesis. 2010
34. Kaidery NA, Tarannum S, & Thomas B. Epigenetic landscape of Parkinson's disease: emerging role in disease mechanisms and therapeutic modalities. *Neurotherapeutics*. 2013; 10(4), 698-708.
35. Tan YY, Wu L, Zhao ZB, Wang Y, Xiao Q, Liu J, et al. Methylation of alpha-synuclein and leucinerich repeat kinase 2 in leukocyte DNA of Parkinson's disease patients. *Parkinsonism RelatDisord* 2014;20:308-13.
36. Desplats P, Spencer B, Coffee E, et al., " α -synuclein sequesters Dnmt1 from the nucleus: a novel mechanism for epigenetic alterations in Lewy body diseases," *Journal of Biological Chemistry*, 2011; 286(11): 9031-9037.
37. Kontopoulos E, Parvin JD, & Feany M B. α -synuclein acts in the nucleus to inhibit histone acetylation and promote neurotoxicity. *Human molecular genetics*. 2006; 15(20), 3012-3023.
38. Outeiro TF, Kontopoulos E, Altmann SM, Kufareva I, Strathearn KE, Amore AM, Volk CB, Maxwell MM, Rochet JC, McLean PJ, Young AB, Abagyan R, Feany MB, Hyman BT, Kazantsev AG. Sirtuin 2 inhibitors rescue alpha-synuclein-mediated toxicity in models of Parkinson's disease. *Science*. 2007; 317(5837):516-519
39. Monti B, Gatta V, Piretti F, Raffaelli SS, Virgili M, Contestabile A. Valproic acid is neuro-protective in the rotenone rat model of Parkinson's disease: involvement of alpha-synuclein. *Neurotox Res*. 2010; 17(2):130-141

6. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NO AUTISMO

Ionara Rodrigues Siqueira
Alysson Muotri

6.1 INTRODUÇÃO

Os Transtornos do Espectro do Autismo (TEA) constituem um grupo de condições relacionadas ao neurodesenvolvimento e são caracterizados especialmente por dificuldades de estabelecer comunicação e interações sociais, interesses restritos e comportamentos estereotipados e repetitivos. Esses transtornos são altamente heterogêneos tanto em relação às manifestações clínicas quanto à etiologia. A grande variabilidade em grau de severidade dos sintomas, em indivíduos altamente funcionais com sintomas leves até casos de alta severidade, justifica a escolha do termo “espectro”. Contudo, a classificação dos TEA tem sido alvo de discussão.

Os TEA, que englobam o autismo “clássico”, a síndrome de Asperger e o transtorno global do desenvolvimento sem outra especificação, compartilham características fenotípicas de traços do autismo com outros transtornos, como a Síndrome de Rett e o Transtorno Desintegrativo da Infância. São diagnosticados frequentemente até os três anos de idade, persistindo até a vida adulta¹.

O cérebro é altamente suscetível ao dano causado por fatores ambientais, como estresse, xenobióticos, fármacos e drogas de abuso, em períodos iniciais do desenvolvimento (pré-natal e lactacional). Essas fases são caracterizadas por amplas e rápidas alterações na organização sináptica². Os mecanismos bioquímicos responsáveis pelo comportamento autista não foram totalmente esclarecidos, contudo é amplamente reconhecido que fatores genéticos e ambientais são centrais na etiologia do autismo³.

6.2 MODULAÇÃO EPIGENÉTICA E TEA

Há evidências de que o autismo e síndromes, como do X Frágil, Angelman, Prader Willi, Rett e Beckwith–Wiedeman, que se manifestam durante fases iniciais do desenvolvimento, podem ocorrer devido a anormalidades de genes que sofrem o fenômeno de *imprinting* genômico (também conhecido como *imprinting* parental) ou outros mecanismos epigenéticos. Recentemente, Varadinova e Boyadjieva (2015)² sugeriram que as modificações epigenéticas induzidas pela exposição ambiental em genes relacionados ao desenvolvimento cerebral alteram o estado transcricional desses genes. Dentre os conhecidos mecanismos epigenéticos, a metilação do DNA parece ter um papel central no TEA⁴.

É interessante descrever que a regulação epigenética do gene da ocitocina (*oxytocin receptor gene*, OXTR) foi relacionada aos TEA⁵. Gregory et al. (2009)³ sugeriram que o silenciamento do gene OXTR pode contribuir para o desenvolvimento do autismo. Esse instigante trabalho mostrou um aumento na metilação de diferentes locos do gene OXTR e sua reduzida expressão em sangue periférico e córtex cerebral. Um recente trabalho relacionou a hipermetilação do gene OXTR com nascimento precoce, o que abre novas direções para investigação levando-se em conta que o nascimento precoce está associado a maior risco de ASD⁶. Ainda, um componente genético foi descrito uma vez que polimorfismos do gene OXTR foram significativamente correlacionados ao autismo^{8, 9}, bem como níveis reduzidos da própria ocitocina foram apontados em indivíduos com ASD¹⁰. Considerando que a ocitocina e a ativação dos seus receptores (OXTR) são tidas como essenciais para o comportamento social, pode-se considerar que esse sistema esteja envolvido com a deficiência de interações sociais no TEA³. Alterações na expressão de diferentes microRNA (miRNA) têm sido descritas. Mor e colegas (2015)¹¹ demonstraram que há maiores níveis de miR-142-5p, miR-142-3p, miR-451a, miR-144-3p e miR-21-5p em cérebros ASD. Além disso, os referidos autores encontraram uma hipometilação na região promotora do gene miR-142 nessas amostras. Há evidências de

que os miRNAs possam estar relacionados com as alterações no conteúdo de OXTR. A expressão do miR-21-5p está negativamente correlacionada com a taxa de OXTR proteína/ RNA mensageiro (RNAm) sugerindo que o miR-21-5p pode inibir a translação da OXTR. Assim, a expressão dos miRNAs pode ser fator limitante nos níveis de OXTR no cérebro autista humano¹¹.

Outro gene candidato é o da relina (RELN). A RELN tem papel central na plasticidade sináptica pós-natal e parece estar relacionada com a fisiopatologia do autismo e de outras doenças, como a esquizofrenia e a desordem bipolar¹². Estudos *post-mortem* mostraram reduções na expressão do gene RELN em córtices cerebelares e cerebrais de indivíduos ASD comparado a controles¹³, assim como seus níveis plasmáticos^{14, 15}. É interessante descrever que a metilação da região promotora do gene RELN aumenta, em altos níveis, na puberdade e que a hipermetilação desse gene foi descrita primeiramente em pacientes esquizofrênicos e bipolares¹⁶⁻¹⁸. Lintas e colegas (2016)¹⁹ descreveram diferenças na distribuição das ilhotas citosina fosfato guanina (CpGs) metiladas e reduções nos níveis de RNAm RELN em córtex temporal de indivíduos TEA pós-púberes comparados aos controles. Algumas regiões apresentaram sobreposição de metilação, entretanto somente indivíduos ASD apresentaram metilação na região -458- a -364-bp, enquanto a região -131- a -43-bp foi exclusivamente metilada em cérebros de controles. Essa diferença no padrão de metilação do promotor RELN pode modificar a viabilidade de acoplamento da maquinaria transcricional e, assim, induzir as consequências funcionais relacionadas à expressão do gene relina¹⁹.

Além desses genes, modificações epigenéticas foram encontradas em outros genes importantes relacionados ao neurodesenvolvimento, como o E3A ligase de ubiquitina-proteína (UBE3A), genes de receptores ácido gama-aminobutírico (GABA) e o regulador Proteína 2 de ligação a metil-CpG (MeCP2) em cérebros TEA *post-mortem*²⁰. O gene UBE3A codifica a ubiquitina proteína ligase E3, responsável pela ubiquitinação de proteínas, e está ligado tanto à TEA quanto à Síndrome de Angelman. Essa síndrome compartilha características fenotípicas com o autismo²¹.

²². A deleção desse gene induz à Síndrome de Angelman, enquanto que uma mutação específica, a duplicação da região que o contém, está relacionada ao TEA²³.

O gene MECP2 codifica uma proteína (também chamada MeCP2) que se liga ao ácido desoxirribonucleico (DNA) metilado, como descrito no primeiro capítulo, e mutações no gene MECP2 produzem perda de função dessa proteína e induzem a alterações de expressão dos diferentes genes por ela regulados. De forma semelhante, duplicações do gene MECP2 também alteram a expressão de genes-alvo, resultado em problemas neurológicos. A síndrome de Rett, relacionada a mutações no MECP2, é um distúrbio neurológico progressivo em que os indivíduos exibem, inicialmente, características muito semelhantes a do autismo, tanto que frequentemente muitos pacientes com essa síndrome são erroneamente diagnosticados com TEA antes da análise genética²⁴. Os sintomas são tônus muscular reduzido, comportamento semelhante ao de um paciente autista, microcefalia, movimentos de torcedura ou golpear com as mãos, perda de uso proposital das mãos, capacidade diminuída de expressar sentimentos, tendência a evitar o contato com os olhos, um atraso no crescimento do cérebro e da cabeça e anormalidades na marcha e convulsões. Níveis de metilação alterados do próprio gene MeCP2 foram descritos em TEA^{25,26}.

Considerando que diferentes genes têm o padrão de metilação alterado em ASD, Grayson e Guidotti (2016)⁴ investigaram várias enzimas relacionadas com as vias de metilação e hidroximetilação do DNA. Esses autores mostraram que os níveis de RNAm de DNA metiltransferase 1 (DNMT1) não foram alterados, contudo RNAm de metilcitosina desoxigenase 1 (TET1) estava aumentado em cerebelo de pacientes TEA. O aumento em TET1 foi acompanhado por um aumento nos níveis de 5hmC nos promotores de glutamato descarboxilase 1 (GAD1), envolvida na produção do neurotransmissor inibitório GABA e de RELN. Ainda, uma maior afinidade da MeCP2 nas regiões promotoras desses genes foi encontrada²⁷. Os níveis de 5hmC correlacionaram negativamente com a expressão de GAD1 e RELN nos cerebelos de indivíduos. É

interessante que camundongos deficientes de MeCP2 em neurônios GABAérgicos desenvolvem características semelhantes ao TEA, como comportamentos estereotipados, déficits em comportamento social, cognição, funções motoras e sensorio-motoras²⁸.

Diferentes fatores ambientais podem contribuir para a patofisiologia da TEA^{6,29}. É importante comentar que o estresse pré-natal altera marcas epigenéticas em interneurônios GABAérgicos, modificando os níveis das enzimas DNMT1 e TET1 e, conseqüentemente, impacta na expressão de diferentes genes^{30,31}. Ainda, o padrão nutricional da mãe durante a gestação altera diretamente o neurodesenvolvimento fetal, inclusive alterando mecanismos epigenéticos^{32,33}. Uma óbvia associação entre nutrição e epigenética pode ser observada nas vias das metiltransferases, DNA e histonas metiltransferases, que utilizam a Sadenosilmetionina (SAM) como principal doadora do grupo metil. Os níveis de SAM são afetados pelos grupos derivados da dieta colina, metionina e metil-tetrahidrofolato. O folato é a maior fonte de grupos metil para a SAM. Vários estudos epidemiológicos mostraram que mães de crianças TEA consumiram menos ácido fólico no período periconcepcional do que as dos casos-controles³⁴⁻³⁶. Por outro lado, a suplementação com altos níveis de ácido fólico pode alterar a expressão de genes que sofrem *imprinting* genômico e que passam a ser candidatos a genes relacionados ao autismo de maneira sexo-dependente em camundongos mostrando a necessidade de determinar a dose ideal de suplementação com ácido fólico em gestantes³⁷.

Ainda, a exposição a toxinas ambientais pode alterar os níveis de metilação do DNA³⁸. Assim, deve-se inferir que a hipometilação pode ter um papel fisiopatológico importante na TEA.

6.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento na prevalência de casos de autismo, a necessidade de tratamento precoce e os altos custos das intervenções justificam a atenção de equipes multidisciplinares para os TEA^{4, 39}.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martins M, de Freitas Coelho NPM, Nogueira VC, Filho ALMM, Sena CL, da Costa MTTP. Diretrizes de Atenção à Reabilitação da Pessoa com Transtornos do Espectro do Autismo (TEA).
2. Varadinova M, Boyadjieva N. Epigenetic mechanisms: A possible link between autism spectrum disorders and fetal alcohol spectrum disorders. *Pharmacological Research*. 2015;102:71-80.
3. Gregory SG, Connelly JJ, Towers AJ, Johnson J, Biscocho D, Markunas CA, et al. Genomic and epigenetic evidence for oxytocin receptor deficiency in autism. *BMC medicine*. 2009;7(1):62.
4. Grayson DR, Guidotti A. Merging data from genetic and epigenetic approaches to better understand autistic spectrum disorder. *Epigenomics*. 2016;8(1):85-104.
5. Jacob S, Brune CW, Carter C, Leventhal BL, Lord C, Cook EH. Association of the oxytocin receptor gene (OXTR) in Caucasian children and adolescents with autism. *Neuroscience letters*. 2007;417(1):6-9.
6. Vijayakumar NT, Judy M. Autism spectrum disorders: Integration of the genome, transcriptome and the environment. *Journal of the Neurological Sciences*. 2016;364:167-76.
7. Behnia F, Parets SE, Kechichian T, Yin H, Dutta EH, Saade GR, et al. Fetal DNA methylation of autism spectrum disorders candidate genes: association with spontaneous preterm birth. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2015;212(4):533. e1-. e9.
8. LoParo D, Waldman I. The oxytocin receptor gene (OXTR) is associated with autism spectrum disorder: a meta-analysis. *Molecular psychiatry*. 2015;20(5):640-6.
9. Di Napoli A, Warriner V, Baron-Cohen S, Chakrabarti B. Genetic variation in the oxytocin receptor (OXTR) gene is associated with Asperger Syndrome. *Molecular autism*. 2014;5(1):1.
10. Modahl C, Green LA, Fein D, Morris M, Waterhouse L, Feinstein C, et al. Plasma oxytocin levels in autistic children. *Biological psychiatry*. 1998;43(4):270-7.
11. Mor M, Nardone S, Sams DS, Elliott E. Hypomethylation of miR-142 promoter and upregulation of microRNAs that target the oxytocin receptor gene in the autism prefrontal cortex. *Molecular autism*. 2015;6(1):1.
12. Folsom TD, Fatemi SH. The involvement of Reelin in neurodevelopmental disorders. *Neuropharmacology*. 2013;68:122-35.
13. Fatemi SH. Co-occurrence of neurodevelopmental genes in etiopathogenesis of autism and schizophrenia. *Schizophrenia research*. 2010;118(1-3):303.
14. Fatemi SH, Stary JM, Egan EA. Reduced blood levels of reelin as a vulnerability factor in pathophysiology of autistic disorder. *Cellular and molecular neurobiology*. 2002;22(2):139-52.

15. Lugli G, Krueger JM, Davis JM, Persico AM, Keller F, Smalheiser NR. Methodological factors influencing measurement and processing of plasma reelin in humans. *BMC biochemistry*. 2003;4(1):1.
16. Grayson DR, Jia X, Chen Y, Sharma RP, Mitchell CP, Guidotti A, et al. Reelin promoter hypermethylation in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(26):9341-6.
17. Chen Y, Sharma RP, Costa RH, Costa E, Grayson DR. On the epigenetic regulation of the human reelin promoter. *Nucleic Acids Research*. 2002;30(13):2930-9.
18. Abdolmaleky HM, Cheng Kh, Russo A, Smith CL, Faraone SV, Wilcox M, et al. Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: a preliminary report. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2005;134(1):60-6.
19. Lintas C, Sacco R, Persico AM. Differential methylation at the RELN gene promoter in temporal cortex from autistic and typically developing post-puberal subjects. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*. 2016;8(1):1.
20. Flashner BM, Russo ME, Boileau JE, Leong DW, Gallicano GI. Epigenetic factors and autism spectrum disorders. *Neuromolecular medicine*. 2013;15(2):339-50.
21. Nurmi EL, Bradford Y, Chen Y-h, Hall J, Arnone B, Gardiner MB, et al. Linkage disequilibrium at the Angelman syndrome gene UBE3A in autism families. *Genomics*. 2001;77(1):105-13.
22. Peters S, Beaudet A, Madduri N, Bacino C. Autism in Angelman syndrome: implications for autism research. *Clinical genetics*. 2004;66(6):530-6.
23. Smith SE, Zhou Y-D, Zhang G, Jin Z, Stoppel DC, Anderson MP. Increased gene dosage of Ube3a results in autism traits and decreased glutamate synaptic transmission in mice. *Science translational medicine*. 2011;3(103):103ra97-ra97.
24. LaSalle JM, Yasui DH. Evolving role of MeCP2 in Rett syndrome and autism. *Epigenomics*. 2009;1(1):119-30.
25. Nagarajan R, Hogart A, Gwye Y, Martin MR, LaSalle JM. Reduced MeCP2 expression is frequent in autism frontal cortex and correlates with aberrant MECP2 promoter methylation. *Epigenetics*. 2006;1(4):172-82.
26. Nagarajan RP, Patzel KA, Martin M, Yasui DH, Swanberg SE, Hertz Picciotto I, et al. MECP2 promoter methylation and X chromosome inactivation in autism. *Autism Research*. 2008;1(3):169-78.
27. Zhubi A, Chen Y, Dong E, Cook E, Guidotti A, Grayson D. Increased binding of MeCP2 to the GAD1 and RELN promoters may be mediated by an enrichment of 5-hmC in autism spectrum disorder (ASD) cerebellum. *Translational psychiatry*. 2014;4(1):e349.
28. Chao H-T, Chen H, Samaco RC, Xue M, Chahrour M, Yoo J, et al. Dysfunction in GABA signalling mediates autism-like stereotypies and Rett syndrome phenotypes. *Nature*. 2010;468(7321):263-9.

29. Chaste P, Leboyer M. Autism risk factors: genes, environment, and gene-environment interactions. *Dialogues Clin Neurosci.* 2012;14(3):281-92.
30. Dong E, Dzitoyeva SG, Matrisciano F, Tueting P, Grayson DR, Guidotti A. Brain-derived neurotrophic factor epigenetic modifications associated with schizophrenia-like phenotype induced by prenatal stress in mice. *Biological psychiatry.* 2015;77(6):589-96.
31. Matrisciano F, Tueting P, Dalal I, Kadriu B, Grayson DR, Davis JM, et al. Epigenetic modifications of GABAergic interneurons are associated with the schizophrenia-like phenotype induced by prenatal stress in mice. *Neuropharmacology.* 2013;68:184-94.
32. Schaevitz LR, Berger-Sweeney JE. Gene-environment interactions and epigenetic pathways in autism: The importance of one-carbon metabolism. *ILAR Journal.* 2012;53(3-4):322-40.
33. Jiménez-Chillarón JC, Díaz R, Martínez D, Pentinat T, Ramón-Krauel M, Ribó S, et al. The role of nutrition on epigenetic modifications and their implications on health. *Biochimie.* 2012;94(11):2242-63.
34. Schmidt RJ, Hansen RL, Hartiala J, Allayee H, Schmidt LC, Tancredi DJ, et al. Prenatal vitamins, one-carbon metabolism gene variants, and risk for autism. *Epidemiology (Cambridge, Mass).* 2011;22(4):476.
35. Schmidt RJ, Tancredi DJ, Ozonoff S, Hansen RL, Hartiala J, Allayee H, et al. Maternal periconceptional folic acid intake and risk of autism spectrum disorders and developmental delay in the CHARGE (Childhood Autism Risks from Genetics and Environment) case-control study. *The American journal of clinical nutrition.* 2012;96(1):80-9.
36. Surén P, Roth C, Bresnahan M, Haugen M, Hornig M, Hirtz D, et al. Association between maternal use of folic acid supplements and risk of autism spectrum disorders in children. *Jama.* 2013;309(6):570-7.
37. Barua S, Kuizon S, Brown WT, Junaid MA. High Gestational Folic Acid Supplementation Alters Expression of Imprinted and Candidate Autism Susceptibility Genes in a sex-Specific Manner in Mouse Offspring. *Journal of Molecular Neuroscience.* 2015:1-10.
38. Baccarelli A, Bollati V. Epigenetics and environmental chemicals. *Current opinion in pediatrics.* 2009;21(2):243.
39. Christensen J, Grønberg TK, Sørensen MJ, Schendel D, Parner ET, Pedersen LH, et al. Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. *Jama.* 2013;309(16):1696-703.

7. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NA ESQUIZOFRENIA

Caroline Dallazen Lavratti

Luciane Wagner

Viviane Rostirola Elsner

7.1 INTRODUÇÃO

Conforme já foi abordado previamente, a epigenética consiste no estudo das alterações reversíveis e herdáveis no genoma funcional que não alteram a seqüência primária do ácido desoxirribonucleico (DNA). Estudos epigenéticos permitem compreender como os padrões de expressão são transmitidos aos descendentes, de que forma ocorrem as modificações gênicas durante a diferenciação de um tipo de célula e, especialmente, como os fatores ambientais repercutem na expressão de genes específicos. Recentemente, estudos nesta área têm auxiliado no entendimento da fisiopatologia de diversas doenças neuropsiquiátricas, incluindo a esquizofrenia e o autismo, condição clínica abordada no capítulo anterior. Essas evidências levantam a hipótese de que doenças como a esquizofrenia desenvolvem-se a partir da interação de mecanismos biopsicossociais. Além disso, apontam para a possibilidade de desenvolvimento de estratégias preventivas e terapêuticas inovadoras para essa população.

A esquizofrenia é um transtorno mental grave que interfere em praticamente todas as áreas da vida do indivíduo. É uma condição clínica de origem multifatorial, resultado de uma complexa combinação de fatores genéticos, psicológicos e ambientais¹. Os sintomas da esquizofrenia envolvem aspectos ligados ao pensamento (forma e conteúdo), à percepção, ao funcionamento cognitivo, à afetividade e ao comportamento, conduzindo a déficits nas relações interpessoais e a uma perda de contato com a realidade.

O aspecto clínico possivelmente mais relevante diz respeito à “dissociação”, que se apresenta pela perda de unidade de pensamento e consequente alteração da personalidade do indivíduo^{2,3}. Todos esses fatores apresentam impacto bastante negativo na autonomia e autoestima dos indivíduos afetados, influenciando em sua inserção social e ocupacional, além de comprometer sua qualidade de vida.

Curiosamente, embora a prevalência seja ao redor de 1%, independentemente do lugar, o prognóstico parece ser melhor em países em desenvolvimento. Isto sugere que fatores ambientais e socioculturais exerçam impacto importante na evolução do transtorno⁴. Neste contexto, tem sido demonstrado que o desequilíbrio de marcadores epigenéticos está associado com a fisiopatologia da doença, o que, de certo modo, contribui para o entendimento da relação do desenvolvimento da doença com fatores socioambientais.

Neste capítulo, nos dedicaremos a estudar esse processo. Inicialmente, descreveremos alguns artigos que discutem achados epigenéticos na população portadora de esquizofrenia. Em seguida, serão descritos estudos sobre as influências ambientais e, ao final, as intervenções que podem modular parâmetros epigenéticos nessa população.

7.2 GENES, AMBIENTE E EPIGENÉTICA

O papel da epigenética no desenvolvimento da esquizofrenia vem sendo elucidado nas últimas décadas. De certo modo, as pesquisas epigenéticas nesse campo foram favorecidas pela constatação de que os fatores genéticos e ambientais, isoladamente, não dão conta de explicar totalmente o risco para o desenvolvimento dessa doença⁵. Evidências crescentes sugerem que modificações epigenéticas em certos circuitos e regiões cerebrais representam o mecanismo “chave” através do qual se pode compreender como os fatores ambientais interagem com a expressão de genes específicos, aumentando ou diminuindo a vulnerabilidade do sujeito ao desenvolvimento de transtornos neuropsiquiátricos como a esquizofrenia⁶.

Os estudos com gêmeos monozigóticos separados ao nascimento foram reveladores neste sentido. Ora, se tais indivíduos possuem a mesma composição gênica, as diferenças de ocorrência do transtorno só poderiam ser atribuídas à exposição a fatores ambientais não partilhados pelos irmãos. Na esquizofrenia, esses estudos apontam para uma concordância ao redor de 50%. Tais achados suscitam questionamentos tanto sobre a “força” do mecanismo genético quanto dos elementos “protetores” ou “bloqueadores” do desenvolvimento da doença advindos do ambiente⁴. Poderíamos supor, por exemplo, que os 50% que não manifestaram a doença foram favorecidos pela supressão de algum gene. Mas também poderíamos refletir que aqueles que desenvolveram a doença sofreram alguma influência no sentido de favorecimento em direção à sua manifestação, ou mais precisamente, na direção da expressão do gene ou dos genes a ela relacionados. Vários questionamentos subsequentes dão conta de pensar sobre o que teria suprimido ou favorecido a expressão do gene. Certamente, a já mencionada interação de fatores genéticos com o estresse (ou não) ambiental está envolvida na organização destes desfechos⁴.

Franzek e Beckmann (1998), ao usarem diferentes sistemas diagnósticos para examinar a concordância entre gêmeos mono- zigóticos e dizigóticos, sugeriram que o espectro das síndromes esquizofrênicas pode consistir em subgrupos clinicamente e etiologicamente heterogêneos, com diferentes origens genéticas e ambientais⁴. Esse e outros estudos com gêmeos contribuíram notavelmente para a compreensão da origem genética e posteriormente epigenética da esquizofrenia. Adicionalmente, com o rápido e recente desenvolvimento da área da biotecnologia, desenvolveu-se um campo florescente de pesquisa que diz respeito à regulamentação ambiental da expressão do gene. A aplicação do método duplo para fenótipos moleculares, por exemplo, é uma das tecnologias que surgiu neste contexto, oferecendo novas oportunidades para o estudo da genética, das influências ambientais e da regulação epigenética⁷. A pesquisa com animais de laboratório, em que se reproduzem as condições neurobiológicas presentes na esquizofrenia, também vem auxiliando enormemente

a compreensão do papel dos fatores genéticos, ambientais e epigenéticos na gênese da esquizofrenia. Por exemplo, alguns desses estudos têm revelado que a qualidade da interação mãe-filho tem papel predominante tanto na origem quanto no prognóstico das psicoses^{8,9,10,11}.

7.3 MARCADORES EPIGENÉTICOS NA ESQUIZOFRENIA

Modificações epigenéticas parecem ser importantes fatores reguladores do funcionamento neural, estando envolvidas na plasticidade sináptica, no comportamento, no aprendizado e na memória durante os estágios críticos do desenvolvimento humano¹⁰. Essas modificações epigenéticas não ocorrem ao acaso, encontrando seu substrato causal nos fatores ambientais que circundam o sujeito. Traumas físicos e psíquicos, exposição a substâncias tóxicas e inclusive elementos nutricionais podem associar-se à modificação na expressão gênica de modo a atuar como fatores de risco para o desenvolvimento de transtornos mentais como a esquizofrenia. Por outro lado, o ambiente também pode ser protetor e reverter alterações gênicas, contribuindo na melhora do prognóstico desta e de outras doenças¹².

Estudos clínicos conduzidos com indivíduos portadores de esquizofrenia têm demonstrado a presença de metilação global de DNA tanto em tecidos *post-mortem* como em sangue periférico. Dentre os genes metilados, os mais citados são o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), o codificador da proteína relina (RELN) e o Catechol-O-metiltransferase (COMT)^{10,13,14}. Sabe-se que o BDNF é uma proteína endógena responsável por regular a sobrevivência neuronal e a plasticidade sináptica do sistema nervoso periférico e central. O COMT está envolvido no metabolismo da dopamina, sendo que a deficiência desse gene gera uma interrupção na capacidade do cérebro para controlar a atividade do referido neurotransmissor. Já o gene RELN é responsável por uma glicoproteína envolvida na plasticidade sináptica, na extensão de dendritos e na liberação de neurotransmissores¹¹.

Em outro estudo no qual foram examinadas amostras de sangue periférico de pacientes com esquizofrenia, observou-se um aumento dos níveis de metilação global de DNA para o gene do BDNF comparado ao grupo controle¹³. Segundo os autores, a metilação reduziu a produção e a expressão do gene no organismo, o que consequentemente diminuiu os efeitos neuroprotetores ligados às células T que estão envolvidas na imunidade da célula.

Também foi descrito um aumento da atividade da enzima DNA metiltransferase (DNMT) em receptores de glicocorticoide (GR) do gene BDNF em linfócitos de indivíduos com esquizofrenia em comparação com o grupo saudável, o que sugere aumento da metilação de DNA e redução da transcrição dessa neurotrofina¹⁴. Disfunções no metabolismo dos GR parecem estar associadas a uma ampla gama de estressores biológicos que, por sua vez, podem precipitar sintomas psicóticos em indivíduos suscetíveis. Sabe-se que os GR diminuem a expressão de BDNF no hipocampo, o que possivelmente possa explicar os efeitos inibitórios nas vias de neuroplasticidade em sujeitos com esquizofrenia¹⁵.

Grayson e Guidotti¹⁶ realizaram uma ampla revisão da literatura sobre a metilação de DNA na esquizofrenia e transtornos relacionados. Corroborando os achados supracitados, encontraram vários estudos que apontam para a importância do mencionado marcador na patogênese desse transtorno. Os autores discutem essencialmente o papel da expressão das enzimas DNMTs nos neurônios GABAérgicos telencefálicos, processo que estaria envolvido diretamente na diferenciação do sistema nervoso central, plasticidade sináptica, aprendizagem e memória. Os processos cognitivos envolvendo a memória, aliás, têm sido bastante relacionados à desmetilação do DNA no córtex pré-frontal¹⁷.

Tang et al.⁸ também encontraram alterações de marcadores epigenéticos nas regiões promotoras de oito genes relacionados com a esquizofrenia em amostras corticais pré-frontais *post-mortem* de portadores de esquizofrenia e transtorno bipolar. Uma hipocetilação significativa da histona H3 foi detectada em indivíduos jovens com esquizofrenia quando comparados com controles; além disso, mudanças de expressão de genes associados com

a bipolaridade e com o envelhecimento, sendo eles: glutamato descarboxilase 1 (GAD1), translocase de membrana mitocondrial externa 40 homólogo (TOMM70A) e a proteína fosfatase, Mg²⁺ + / Mn²⁺ dependente 1E (PPM1E), estavam correlacionados com esta hipoacetilação. Esses autores citam ainda a possibilidade dessa hipoacetilação ser revertida com inibidores da histona deacetilase (iHDAC), como por exemplo, o ácido valpróico.

Em um estudo recente com ratas prenhas que foram perturbadas ao longo da gestação, foi possível observar uma desregulação da DNMT global em tecido cerebral, a qual está associada com o baixo nível de BDNF e do GAD1¹⁸. Resultados similares são encontrados também em achados *post-mortem* em cérebro de esquizofrênicos, onde se observa uma elevada expressão de DNMTs em genes como RELN e GAD1¹⁹. Assim, os genes que se encontram hipermetilados em esquizofrênicos são também hipermetilados em resposta ao estresse pré-natal. O significado da hipermetilação de RELN e BDNF já foi exposto acima e o silenciamento do GAD1 gera déficits no controle sensório-motor visto em esquizofrênicos¹⁹. Esses dados sugerem que o estresse pré-natal modula parâmetros epigenéticos e isso pode estar relacionado com a fisiopatologia da esquizofrenia.

Em estudos experimentais com ratos, o cuidado materno é medido pelo número de lambidas que a rata dá em seu filhote. A partir disso, Zhang et al. (2010)²⁰ relataram que melhores cuidados estão ligados a um aumento na expressão GAD1; enquanto que a negligência materna apresentou uma diminuição da expressão do GAD1 via metilação de DNA²⁰.

Em outro estudo sobre cuidado materno, observou-se uma diminuição na expressão do gene RELN em filhotes de ratos expostos a maus-tratos²¹. Já a desmetilação do DNA desse gene em córtex pré-frontal está associado à capacidade de um animal aprender informações novas e para a formação da memória na idade adulta²².

Cabe descrever ainda que o tratamento farmacológico da esquizofrenia é feito com antipsicóticos, destacando-se o Valproato ou Ácido Valproico (VPA), o qual é um iHDAC²³. Já foi descrito

que a administração de VPA induz a uma hiperacetilação da histona H3 em encéfalo de ratos, o que está associado com o aumento dos genes RELN e Glutamato descarboxilase 67 (GAD67)²⁴.

7.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos epigenéticos sugerem que o contexto ambiental, como cuidado materno, estresse e uso de fármacos exercem influência na modulação gênica e epigenética em modelos experimentais e em indivíduos com esquizofrenia. Essa influência, naturalmente, pode ser negativa ou positiva, influenciando no prognóstico da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tandon R, Gaebel W, Barch D.M, Bustillo J, Gur R.E, Heckers S, Malaspina D, Owen M, Schultz S, Tsuang M, Os J.V, Carpenter W. Definition and description of schizophrenia in the DSM-5. Schizophrenia Research. Volume 150, Issue 1, Pages 3–10, 2009.
2. DSM-5. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais. 5. ed. Art-med: APA, 2014.
3. Afonso, P. Esquizofrenia: para além dos mitos, descobrir a doença. Cascais: Princípia, 2009.
4. King, R.A., Rotter, J.I., Motulsky, A.G. The Genetic Bases of Comomn Diseases. 2.ed. Oxford University Press, 2002.
5. Li, Y; Camarillo C; Xu J; Arana T.B; Xiao Y; Zhao Z; Chen H; Ramirez M; Zavala J; Escamilla M.A; Armas R; Mendoza R; Ontiveros A; Nicolini H; Magaña A.A.J; Rubin L.J; Li X; Xu C.
Analyses reveal novel epigenetic regulation patterns in schizophrenia and bipolar disorder. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International, [S.l.], v. 5, n. 7, p. 120147,2015.
6. Ibi, D.; Maeso, J. Epigenetic signaling in Schizophrenia. Cellular Signalling 2131-2136, 2015.
7. Archer.T; Kostrzewa, R.M. Physical Exercise Alleviates Health Defects, Symptoms, and Biomarkers in Schizophrenia Spectrum Disorder. Neurotox Res 28: 268-280, 2015.
8. Tang, B.; Dean, B.; Thomas, E.A. Disease- and age-related changes in histone

acetylation at gene promoters in psychiatric disorders. *Transl. Psychiatry.*, [S.l.], v. 20, n. 1, p. 64, 2011.

9. Viana-Sulzbach M, Pedrini M, Bücker J, Brietzke E, Gama CS. Hippocampus size does not correlate with body mass index in bipolar disorder. *Rev Bras Psiquiatr.* 2016 Mar;38(1):86-7.

10. Lee, R.; Alisch, S. Early-life disruption of epigenetic marks may contribute to the origins of mental illness. *Epigenomics*, v. 4, n. 4, p. 355–357, 2012.

11. Akbarian, T. L. Epigenetics mechanisms in schizophrenia. *Dialogues Clin Neurosci*, v. 16, n. 3, p. 405–417, 2014.

12. Nurjono, M. Neelamekam, S. Lee, J. Serum leptin and its relationship with psychopathology in schizophrenia *Psychoneuroendocrinology* 50, 149–154, 2014.

13. Ikwegame, T. Schizophrenia patients. *Neurosci Res*, 2013 v. 77, n. 4, p. 208-14, 2013.

14. Auta, J. DNA-Methylation Gene Network Dysregulation in Peripheral Blood Lymphocytes of Schizophrenia Patients. *Schizophr Res*, v. 150, n. 1, p. 312–318, 2014.

15. Schmitt, A. The impact of environmental factors in severe psychiatric disorders. *Front Neurosci*, v. 8, p. 19, 2014.

16. Grayson, D. R. & Guidotti, A. The Dynamics of DNA Methylation in Schizophrenia and Related Psychiatric Disorders. *Neuro psychopharmacology REVIEWS*, v. 38, p. 138–166, 2013.

17. Miller, C. A; Gavin C.F; White J.A; Parrish R.R; Honasoge A; Yancey C.R; Rivera I.M; Rubio M.D; Rumbaugh G; Sweatt J.D. Cortical DNA methylation maintains remote memory. *Nat Neurosci*, v. 3, n. 6, p. 664–666, 2010.

18. Dong, E; Dzitoyeva S.G; Matrisciano F; Tueting P; Grayson D.R; Guidotti A. BDNF epigenetic modifications associated with schizophrenia-like phenotype induced by prenatal stress in mice. *Biol Psychiatry*, v. 77, n. 6, p. 589–596, 2015.

19. Gottschalk, M.G; Wesseling H; Bahn S. Translational studies in neuropsychiatry and schizophrenia: genetic animal models and. *Rev Psiquiátr. Clínic*, v. 40, n. 1, p. 41-50, 2013.

20. Zhang, Y; Hashimoto S; Fujii C; Hida S; Ito K; Matsumura T; Sakaizawa T; Morikawa M; Masuki S; Nose H; Higuchi K; Nakajima K; Taniguchi S. NFκB2 gene as a novel candidate that epigenetically responds to interval walking training. *J. Sports Med.*, [S.l.], v. 56, n. 9, p. 134154, 2015.

21. Chama, J.; Scheuing, L.; Roth, T. Differential methylation of genes in the medial prefrontal cortex of developing and adult rats following exposure to maltreatment or nurturing care during infancy. *Developmental Neuroscience*, v. 35, p. 306-316, 2013.

22. Miller, C.A; Gavin C.F; White J.A; Parrish R.R; Honasoge A; Yancey C.R; Rivera I.M; Rubio M.D; Rumbaugh G; Sweatt J.D. Cortical DNA methylation maintains remote memory. *Nat Neurosci*, v. 3, n. 6, p. 664–666, 2010.
23. Nishioka M; Bundo M; Kasai K; Iwamoto K. DNA methylation in schizophrenia: progress and challenges of epigenetic studies. *Genome Med*, v. 4, n. 12, p. 96, 2012.
24. Tremolizzo A; DiFrancesco J.C; Rodrigues V; Riva C; Conti E; Galimberti G; Ruffmann C; Ferrarese C. Valproate induces epigenetic modifications in Lympho monocytes from epileptic patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, v. 39, n. 1, p. 47– 51, 2012.

8. MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NAS FUNÇÕES COGNITIVAS

*Laura Reck Cechinel
Ionara Rodrigues Siqueira*

8.1 MEMÓRIA E APRENDIZADO

Aprendizado e memória são funções cognitivas por meio das quais adquirimos novos conhecimentos e armazenamos as informações aprendidas ao longo do tempo¹. A memória não envolve uma estrutura cerebral isolada, mas depende de complexas circuitarias neuronais, especialmente do hipocampo, da amígdala e das regiões corticais que são essenciais na formação da memória.

A memória pode ser categorizada em memória de curto prazo (*short-term memory*, STM) e em memória de longo prazo (*long-term memory*, LTM). STM é um sistema de memória de capacidade limitada que mantém informações por um breve período de tempo, cerca de 30 minutos a 6 horas. A formação da LTM exige um processo repetitivo ou intensificado de atividade neural que é referido como o processo de “consolidação”, perdura por horas, dias ou anos. As evidências sugerem que a formação de STM não necessita de síntese proteica, mas sim de modificações de proteínas existentes, ao passo que a formação de LTM depende de síntese de novas proteínas^{1,2}. Neste contexto, considerando que os mecanismos epigenéticos alteram a expressão gênica, diferentes grupos de pesquisa investigaram as alterações epigenéticas relacionadas à memória e ao aprendizado.

8.2 EPIGENÉTICA E FUNÇÕES COGNITIVAS

Os mecanismos epigenéticos têm papel importante nos processos cognitivos. Esta relação foi proposta pela primeira

vez por Francis Crick (1916-2004) em 1984, que afirmou que “a memória pode ser codificada em alterações específicas no ácido desoxirribonucleico (DNA) cromossômico”³. Com o passar dos anos, outros autores seguiram o mesmo conceito e o aprimoraram sugerindo que a metilação do DNA seja um processo dinâmico no cérebro importante para a formação da memória⁴. Enquanto isso, demais estudos trouxeram a noção de que modificações em histonas estão associadas à regulação de aspectos do aprendizado, memória e cognição⁵.

A formação da memória, ou os processos pelos quais aspectos específicos de um evento são codificados e armazenados no cérebro⁶ passam por diferentes fases, em nível molecular e celular⁷. Os mecanismos de plasticidade sináptica são complexos e recrutam diferentes cascatas de sinalização, dependendo da sua localização e fase temporal, dentre elas as vias glutamatérgicas, dopaminérgicas e sinalização colinérgica são amplamente reconhecidas^{8,9}.

Essas diferentes vias de neurotransmissão têm sido associadas na regulação pós-transducionais de histonas⁵.

A aquisição da memória parece ser iniciada quando receptores pós-sinápticos tipo NMDA são ativados levando a um influxo de Ca^{2+} para o neurônio. O aumento de Ca^{2+} leva à ativação de cinases, como a proteína cinase dependente de Ca^{2+} /calmodulina II (CaMKII). A atividade de CaMKII contribui para a formação de STM. Com o tempo, essa memória recém-adquirida é consolidada em LTM, em um processo que é dependente de transcrição gênica. Essa transcrição gênica, induzida pelo aprendizado, é em parte regulada através de mecanismos de sinalização ativados por Ca^{2+} , incluindo a sinalização por CaMKII, AMP cíclico (cAMP) e por um sinal extracelular relacionado à sinalização da quinase (ERK). Essas vias convergem para o elemento responsivo de cAMP (CREB), um fator de transcrição que regula muitos genes-alvo na formação de LTM^{10,11}. A potenciação de longa duração (LTP) é considerada como o mecanismo celular para a formação de LTM¹². A LTP foi descrita pela primeira vez como uma forma da transmissão sináptica no hipocampo¹³; no entanto, agora é amplamente aceito que a LTP é uma forma permanente de aprendizagem subjacente à plasticidade sináptica e memória¹.

8.2.1 MODIFICAÇÕES NAS HISTONAS

A regulação da estrutura da cromatina através de modificações pós-traducionais em histonas é importante para a indução de plasticidade sináptica e para a formação da memória de longo prazo^{7, 14, 15}.

Schmitt e Matthies (1979) foram os primeiros autores que estudaram a correlação entre aprendizado e acetilação de histonas utilizando modelos animais; desde então, diversos outros autores buscaram aprimorar o conhecimento sobre esta relação^{14,16}. Em geral, sabe-se que o aumento da acetilação das histonas pode aumentar a transcrição gênica, melhorar a LTP, além de beneficiar a formação da LTM em ratos^{1, 17, 18}.

Muitos estudos sugerem que a interação entre histona acetiltransferases (HATs) e histona deacetilases (HDACs) seja fundamental para a LTM. Sabe-se que a exposição de ratos a uma experiência nova pode induzir acetilação de histonas e um aumento da atividade de HAT em estruturas corticais. Há evidências demonstrando que a acetilação pode ser regulada através da via de proteína quinase regulada por sinal extracelular (ERK)/ proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK)¹⁹. Além disso, vale ressaltar que a acetilação da histona H3 no hipocampo, que já foi associada à consolidação de LTM, é dependente da ativação de receptores N-metil D-Aspartato (NMDA) e da via ERK/MAPK^{15, 17}. A ativação da proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc (CREB) através de ERK impacta os níveis de acetilação de genes-alvo específicos por recrutamento de proteína ligante de CREB (CBP), uma HAT que está mutada na síndrome de Rubinstein Taybi, patologia caracterizada pela deficiência intelectual²⁰. O papel da CBP durante o teste de reconhecimento de objetos para formação de LTM depende da sua capacidade para se ligar ao CREB e também da sua atividade acetiltransferase, o que sugere que o CBP regula a LTM pela acetilação de histonas em genes alvo do CREB²¹.

Muitos estudos demonstram que a acetilação das histonas no cérebro pode melhorar o desempenho em paradigmas de memória.

Os estudos utilizando inibidores farmacológicos não específicos de HDAC (iHDAC) demonstraram o papel dessas enzimas na formação da memória, tanto em modelos animais quanto na LTP¹⁷. Tais inibidores (tricostatina A - TSA, ácido hidroxâmicosuberoilnilida - SAHA, butirato de sódio - NaBut, fenilbutirato - PBA e ácido valproico - VPA) atenuam déficits cognitivos em diferentes modelos de roedores^{5, 14, 17}. A administração de NaBut, antes do teste de condicionamento de medo contextual, melhora a memória de longa duração, mas não a memória de curta duração. Do mesmo modo, a administração de TSA no hipocampo melhora a memória espacial de longa duração²².

Dentre as isoformas, a HDAC2 pertencente à Classe I, atua como um regulador negativo para o aprendizado e memória. A superexpressão de HDAC2 provoca prejuízos na plasticidade sináptica e na formação da memória, enquanto que a deleção de HDAC2 induz à melhora na LTP hipocampal²³. Outra evidência do papel da HDAC2 foi o fato de que iHDAC/SAHA não altera a memória de ratos nocaute para HDAC2. A HDAC2 está associada a regiões promotoras de genes relacionados na regulação das sinapses, plasticidade neural e aos processos de aprendizado e memória²³. Vale ressaltar que já foi descrito que a HDAC2 pode se ligar ao promotor do gene do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) e que o nocaute ou superexpressão de HDAC2 em neurônios leva, respectivamente, à diminuição ou ao aumento da acetilação de histonas no promotor do BDNF²³. Os iHDAC aumentaram a acetilação global da histona H3 tanto no hipocampo quanto na amígdala e córtex pré-frontal, acompanhado de melhora na consolidação da memória^{17, 24-27}.

Ainda vale destacar que o paradigma do medo condicionado aumenta a acetilação global das histonas H3^{17, 22}, bem como acetilação de lisinas específicas das histonas H3 e H4, tais como H3K9, H3K14, H4K5, H4K8 e H4K12 em hipocampo de roedores²⁸. Ainda, recentemente, foi observado que a exposição ao paradigma da esquiiva inibitória também pode alterar a acetilação de H3K14²⁹. Assim, mais estudos são necessários para elucidar os mecanismos

associados à modulação da acetilação das histonas nos processos de aprendizado e memória. Diversos estudos forneceram evidências de que o processo de metilação de histonas, o qual pode ativar ou reprimir a expressão gênica, também é necessário para a formação e a consolidação da memória³⁰. Os estudos que abordam o processo de metilação de histonas associado à regulação do aprendizado e memória focam-se em alguns resíduos específicos como, por exemplo, H3K4 e H3K9. A metilação desses resíduos é responsável pela regulação de modo dinâmico e transitório da memória após a tarefa de condicionamento contextual de medo (uma forma de aprendizado em que um estímulo aversivo está associado a um contexto neutro) em diferentes estruturas cerebrais de ratos^{26, 30, 31}.

A exposição ao paradigma de condicionamento contextual de medo modulou os níveis de metilação de lisinas específicas, H3K9me2 e H3K4me3 com padrão temporal e estrutura dependente^{30, 31}. Uma hora após a exposição ao paradigma, houve um aumento nos níveis desses parâmetros epigenéticos tanto em córtex entorrinal quanto em hipocampo. H3K4me3 retornou ao nível basal, enquanto que H3K9me2 apresentou níveis reduzidos em hipocampo após 24 horas da exposição ao paradigma; inversamente, H3K9me2 manteve-se inalterado e H3K4me3 diminuiu no córtex entorrinal neste tempo³¹. Além disso, evidências indicam que a H3K36me3 também sofre modulação durante as experiências nas quais os animais foram submetidos. Os níveis de H3K36me3 aumentaram no hipocampo e córtex após o teste de reconhecimento de objetos³².

O uso de inibidores de metilação é utilizado para elucidar os componentes e processos envolvidos na metilação. A inibição farmacológica da enzima G9a, que metila a H3K9, exibe um perfil de resposta particular para diferentes regiões do encéfalo após o condicionamento contextual do medo; a inibição de G9a no hipocampo induz uma perda de LTM, enquanto que a sua inibição no córtex induz aumento da LTM³¹.

Os processos da memória e da plasticidade sináptica no adulto cognitivamente saudável requerem transcrição de genes

imediatos, como *activity-regulated cytoskeletal* (Arc), nuclease dedo de zinco 268 (Zif268, também conhecido como fator de crescimento do nervo 1- NGF-1) e BDNF³³. Gupta e colegas (2010)³⁰ observaram que a trimetilação da histona 3 lisina 4 (H3K4me3) no hipocampo aumentou nos promotores dos genes Zif268 e BDNF após a tarefa de condicionamento contextual do medo. Outros paradigmas de memória alteram a metilação das histonas na região promotora do gene do BDNF, como a memória espacial³⁰.

Há evidências de que a metilação da H3K4 pode estar envolvida na formação de memória; camundongos que não expressam a metiltransferase de H3K4 (MLL1) apresentam déficits na LTM³² e ainda mutações nos genes de metiltransferases humanas, MLL2 e MLL3, que podem causar deficiências intelectuais³⁴.

Os dados sobre as alterações na metilação das histonas devem sempre ser interpretados com cautela uma vez que os padrões de metilação podem induzir a uma variação considerável no perfil de respostas. Portanto, a avaliação das enzimas necessárias para a metilação pode fornecer evidências importantes no que diz respeito ao papel desse processo durante a aquisição e a consolidação da memória.

A fosforilação de histonas constitui outro processo epigenético importante para a memória. Em especial, a fosforilação da histona H3, um integrador molecular de vias de sinalização citoplasmática e eventos nucleares⁵, já foi relacionada como mecanismo essencial para a transcrição gênica associada à memória³⁵. Estudos recentes demonstram que a proteína quinases da família MAPK contribui para a regulação da fosforilação de histonas na formação da memória⁵. A fosforilação da histona H3 serina 10 (H3S10) é mais comumente descrita em estudos envolvendo aprendizado e memória. A fosforilação nesse resíduo parece estar associada com a ativação da transcrição. H3S10 pode afetar a transcrição alterando diretamente a estrutura da cromatina, ou pelo recrutamento de outras proteínas ou pela associação com outras marcas epigenética¹¹. Assim como acontece na acetilação da histona, a fosforilação de H3S10 parece estar aumentada no hipocampo em resposta ao medo condicionado^{36, 11}. É interessante descrever que

há evidências de que uma cinase da via ERK/MAPK, a MSK1, está envolvida na formação de memória no paradigma do medo condicionado por acetilação e fosforilação da histona H3³⁵.

8.2.2 ALTERAÇÕES NO DNA

Sweatt e colegas³⁸ demonstraram que a exposição ao paradigma do medo condicionado induz a um aumento de RNAm das DNMTs 3A e 3B no hipocampo de ratos³⁷. Ainda, assim como na modulação em histonas, o uso de inibidores de enzimas envolvidos no processo auxilia na elucidação do envolvimento desse mecanismo. Alguns trabalhos já relataram que a administração de inibidores de DNMTs piora a LTP no hipocampo de ratos. Além disso, a utilização de inibidores de DNMT, por exemplo desoxicidina 5-aza (5-Aza) e Zebularina (Zeb), no hipocampo, após o teste de condicionamento do medo, induz ao prejuízo na memória em animais. Esses dados sugerem que a inibição de DNMTs e, conseqüentemente, a redução da metilação do DNA podem ser relacionadas aos déficits no aprendizado e na formação da memória^{11, 38}. Tais estudos indicam que a deficiência de metilação de DNA pode desempenhar um papel crucial e ser um mecanismo fundamental na regulação da memória, aprendizado e cognição em animais¹⁸.

Curiosamente, a inibição da DNMT no córtex pré-frontal prejudica a evocação de memórias existentes, mas não a formação de novas memórias, indicando funções circuito-específicas da metilação do DNA na formação e manutenção da memória^{15,39}.

A análise de genes específicos revelou a complexidade da regulação epigenética durante o aprendizado e memória. Num estudo recente sobre a regulação epigenética do gene BDNF durante a formação da memória foi descoberto que o paradigma do medo condicionado evoca a metilação e desmetilação de vários promotores de BDNF⁴⁰.

Outro exemplo interessante é da regulação epigenética do gene da relina que foi relacionada ao desencadeamento de plasticidade e à memória comportamental de longo prazo no sistema

nervoso central (SNC) adulto¹⁵. O paradigma do medo condicionado induziu a expressão de relina, reduzindo a metilação no promotor do gene em hipocampo²⁵, enquanto que, no córtex, ocorre um aumento na metilação do referido promotor deste gene³¹.

8.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados demonstram que os mecanismos epigenéticos, acetilação e metilação de histonas além da metilação do DNA estão relacionados a diversos processos cognitivos, como o aprendizado e a memória. Ainda, os estudos sobre as modificações epigenéticas na regulação da cognição indicam que essas modificações possam alterar a transcrição gênica. Além disso, a investigação sobre o papel dos inibidores farmacológicos de acetilação e/ou metilação tem recebido grande atenção, em parte pelo seu papel para promover ou reverter mudanças epigenéticas, contribuindo, deste modo, para sua utilização como terapia em disfunções cognitivas. Embora já se tenha conhecimento que algumas marcas epigenéticas estão relacionadas ao aprendizado e à memória, ainda são necessários mais estudos para que se possam estabelecer os mecanismos exatos que regulam tais processos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Liu L, van Groen T, Kadish I, Tollefsbol TO. DNA methylation impacts on learning and memory in aging. *Neurobiology of aging*. 2009;30(4):549-60.
2. Huang Y-Y, Li X-C, Kandel ER. cAMP contributes to mossy fiber LTP by initiating both a covalently mediated early phase and macromolecular synthesis-dependent late phase. *Cell*. 1994;79(1):69-79.
3. Crick F. *Neurobiology: Memory and molecular turnover*. *Nature*. 1984;312:101.
4. Holliday R. Is there an epigenetic component in long-term memory? *Journal of theoretical biology*. 1999;200(3):339-41.
5. Gräff J, Mansuy IM. Epigenetic codes in cognition and behaviour. *Behavioural brain research*. 2008;192(1):70-87.
6. Nadel L, Hupbach A, Gomez R, Newman-Smith K. Memory formation, consolidation and transformation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2012;36(7):1640-5.

7. Jarome TJ, Lubin FD. Epigenetic mechanisms of memory formation and re-consolidation. *Neurobiology of learning and memory*. 2014;115:116-27.
8. Bortolotto ZA, Collingridge GL. Characterisation of LTP induced by the activation of glutamate metabotropic receptors in area CA1 of the hippocampus. *Neuropharmacology*. 1993;32(1):1-9.
9. Huerta PT, Lisman JE. Heightened synaptic plasticity of hippocampal CA1 neurons during a cholinergically induced rhythmic state. 1993.
10. Frank DA, Greenberg ME. CREB: a mediator of long-term memory from mollusks to mammals. *Cell*. 1994;79(1):5-8.
11. Kramer JM. Epigenetic regulation of memory: implications in human cognitive disorders. *Biomolecular concepts*. 2013;4(1):1-12.
12. Makino H, Malinow R. AMPA receptor incorporation into synapses during LTP: the role of lateral movement and exocytosis. *Neuron*. 2009;64(3):381-90.
13. Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of physiology*. 1973;232(2):331-56.
14. Rudenko A, Tsai L-H. Epigenetic modifications in the nervous system and their impact upon cognitive impairments. *Neuropharmacology*. 2014;80:70-82.
15. Day JJ, Sweatt JD. Epigenetic mechanisms in cognition. *Neuron*. 2011;70(5):813-29.
16. Schmitt M, Matthies H. [Biochemical studies on histones of the central nervous system. III. Incorporation of [14C]-acetate into the histones of different rat brain regions during a learning experiment]. *Acta biologica et medica Germanica*. 1979;38(4):683-9.
17. Levenson JM, O'Riordan KJ, Brown KD, Trinh MA, Molfese DL, Sweatt JD. Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(39):40545-59.
18. Xu X. DNA methylation and cognitive aging. *Oncotarget*. 2015;6(16):13922.
19. Swank MW, Sweatt JD. Increased histone acetyltransferase and lysine acetyltransferase activity and biphasic activation of the ERK/RSK cascade in insular cortex during novel taste learning. *The Journal of Neuroscience*. 2001;21(10):3383-91.
20. Petrif F, Giles RH, Dauwerse HG, Saris JJ, Hennekam RC, Masuno M, et al. Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional co-activator CBP. 1995.
21. Korzus E, Rosenfeld MG, Mayford M. CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation. *Neuron*. 2004;42(6):961-72.
22. Vecsey CG, Hawk JD, Lattal KM, Stein JM, Fabian SA, Attner MA, et al. Histone deacetylase inhibitors enhance memory and synaptic plasticity via

CREB: CBP-dependent transcriptional activation. *The Journal of Neuroscience*. 2007; 27(23):6128-40.

23. Guan JS, Haggarty SJ, Giacometti E, Dannenberg JH, Joseph N, Gao J, et al. HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature*. 2009;459.

24. Mahan AL, Mou L, Shah N, Hu J-H, Worley PF, Ressler KJ. Epigenetic modulation of Homer1a transcription regulation in amygdala and hippocampus with pavlovian fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*. 2012;32(13):4651-9.

25. Monsey MS, Ota KT, Akingbade IF, Hong ES, Schafe GE. Epigenetic alterations are critical for fear memory consolidation and synaptic plasticity in the lateral amygdala. *PLoS One*. 2011;6(5):e19958.

26. Gupta-Agarwal S, Jarome TJ, Fernandez J, Lubin FD. NMDA receptor- and ERK-dependent histone methylation changes in the lateral amygdala bidirectionally regulate fear memory formation. *Learning & memory*. 2014;21(7):351-62.

27. Sui L, Wang Y, Ju L-H, Chen M. Epigenetic regulation of reelin and brain-derived neurotrophic factor genes in long-term potentiation in rat medial prefrontal cortex. *Neurobiology of learning and memory*. 2012;97(4):425-40.

28. Peleg S, Sananbenesi F, Zovoilis A, Burkhardt S, Bahari-Javan S, Agis-Balboa RC, et al. Altered histone acetylation is associated with age-dependent memory impairment in mice. *Science*. 2010;328(5979):753-6.

29. de Meireles LCF, Bertoldi K, Elsner VR, dos Santos Moysés F, Siqueira IR. Treadmill exercise alters histone acetylation differently in rats exposed or not exposed to aversive learning context. *Neurobiology of learning and memory*. 2014;116:193-6.

30. Gupta S, Kim SY, Artis S, Molfese DL, Schumacher A, Sweatt JD, et al. Histone methylation regulates memory formation. *The Journal of neuroscience*. 2010;30(10):3589-99.

31. Gupta-Agarwal S, Franklin AV, DeRamus T, Wheelock M, Davis RL, McMahon LL, et al. G9a/GLP Histone Lysine Dimethyltransferase Complex Activity in the Hippocampus and the Entorhinal Cortex Is Required for Gene Activation and Silencing during Memory Consolidation. *The Journal of Neuroscience*. 2012;32(16):5440-53.

32. Gräff J, Woldemichael BT, Berchtold D, Dewarrat G, Mansuy IM. Dynamic histone marks in the hippocampus and cortex facilitate memory consolidation. *Nature communications*. 2012;3:991.

33. Penner MR, Roth TL, Barnes C, Sweatt D. An epigenetic hypothesis of aging-related cognitive dysfunction. *Frontiers in aging neuroscience*. 2010;2:9.

34. Ng SB, Bigham AW, Buckingham KJ, Hannibal MC, McMillin MJ, Gildersleeve HI, et al. Exome sequencing identifies MLL2 mutations as a cause of Kabuki syndrome. *Nature genetics*. 2010;42(9):790-3.

35. Chwang WB, O’Riordan KJ, Levenson JM, Sweatt JD. ERK/MAPK regulates hippocampal histone phosphorylation following contextual fear conditioning. *Learning & memory*. 2006;13(3):322-8.
36. Alarcón JM, Malleret G, Touzani K, Vronskaya S, Ishii S, Kandel ER, et al. Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP^{+/-} mice: a model for the cognitive deficit in RubinsteinTaybi syndrome and its amelioration. *Neuron*. 2004;42(6):947-59.
37. Miller CA, Sweatt JD. Covalent modification of DNA regulates memory formation. *Neuron*. 2007;53(6):857-69.
38. Levenson JM, Roth TL, Lubin FD, Miller CA, Huang I-C, Desai P, et al. Evidence that DNA (cytosine-5) methyltransferase regulates synaptic plasticity in the hippocampus. *Journal of Biological Chemistry*. 2006;281(23):15763-73.
39. Miller CA, Gavin CF, White JA, Parrish RR, Honasoge A, Yancey CR, et al. Cortical DNA methylation maintains remote memory. *Nature neuroscience*. 2010;13(6):664-6.
40. Lubin FD, Roth TL, Sweatt JD. Epigenetic regulation of BDNF gene transcription in the consolidation of fear memory. *The Journal of neuroscience*. 2008;28(42):10576-86.

9. EXERCÍCIO E MODULAÇÃO EPIGENÉTICA: ESTUDOS EXPERIMENTAIS

*Viviane Rostirola Elsner
Ionara Rodrigues Siqueira*

O exercício físico tem sido apontado como um importante modulador epigenético, podendo atuar em diversos tecidos como sangue periférico, músculo, encéfalo, tanto em modelos experimentais quanto em estudos clínicos. Neste capítulo, iremos descrever os principais achados acerca da temática “exercício físico versus epigenética em animais de laboratório”. Apesar de o exercício impactar grupos celulares distintos, este capítulo também descreverá os principais achados obtidos em encéfalo de roedores e sua relação com aspectos cognitivos e parâmetros comportamentais como ansiedade, estresse e depressão.

Um aspecto relevante a ser ressaltado é que o exercício altera a maquinaria epigenética independentemente da fase do desenvolvimento, modificando marcadores de metilação de histonas, metilação de ácido desoxirribonucleico (DNA) e acetilação de histonas em diferentes estruturas encefálicas de roedores adolescentes, adultos jovens e envelhecidos, conforme será exemplificado abaixo.

9.1 EFEITOS NA ADOLESCÊNCIA

Em camundongos machos adolescentes (linhagem C57BI/6), foi demonstrado que um protocolo de exercício físico voluntário (livre acesso à roda de corrida) durante uma semana aumentou significativamente a expressão hipocampal de genes associados com o aprimoramento da função cerebral. Dentre estes, destaca-se o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF)¹, uma molécula que exerce papel crucial nos processos de memória e aprendiza-

gem, além de promover a plasticidade sináptica, neurogênese, crescimento e maturação neuronal, além de estar envolvida em situações de estresse^{2,3}. Os autores observaram que o aumento na expressão gênica do BDNF, em resposta ao exercício físico, envolve tanto a modulação de marcadores de acetilação de histonas quanto de metilação de DNA. Especificamente, foi encontrada uma redução na expressão de histona deacetilases (HDACs) no hipocampo de camundongos exercitados quando comparado ao grupo sedentário, um indicativo de aumento nos níveis de acetilação de histonas. De fato, os autores observaram que o exercício induziu a um estado de hiperacetilação da histona H3, marcador associado com o aumento da atividade transcricional. Finalmente, uma redução significativa na expressão das enzimas DNA metiltransferases 1 (DNMT1), 3A (DNMT3A) e 3B (DNMT3B) também foi encontrada em resposta ao exercício, sugerindo que os níveis aumentados de BDNF também estão associados com a redução de marcadores de metilação de DNA¹.

9.2 EFEITOS NA FASE ADULTA

Resultados semelhantes foram observados em ratos machos adultos jovens (linhagem Sprague-Dawley). O mesmo protocolo de exercício acima citado induziu a um aumento na expressão hipocampal do gene do BDNF. Essa resposta estava associada à hiperacetilação da histona H3 e à redução dos níveis de metilação global de DNA. Por outro lado, os níveis hipocampais de acetilação da histona H4 não diferiram entre o grupo exercitado e sedentário após a intervenção. Tais dados sugerem que existe uma especificidade na ação do exercício voluntário em relação à histona H3 para facilitar e/ou induzir a um aumento na transcrição do BDNF em hipocampo de ratos adultos jovens⁴.

Protocolos de exercício físico forçado também demonstraram alterar mecanismos epigenéticos em encéfalo de ratos machos Wistar adultos jovens. Em hipocampo, foi reportado que uma única sessão em esteira ergométrica durante 20 minutos aumentou a atividade da enzima histona acetiltransferase (HAT) com uma

concomitante redução na atividade da HDAC, o que sugere um aumento dos níveis de acetilação de histonas⁵. Um aspecto interessante a ser destacado nesse estudo é que a modulação parece ser rápida e transitória, uma vez que as enzimas foram modificadas imediatamente em uma hora após o término da sessão, sem alterar 18 horas após. Além dos referidos achados, os autores observaram ainda que o protocolo crônico de exercício (corrida durante duas semanas, 20 minutos por dia) não teve efeito sobre esses mesmos marcadores. Desta forma, surge a hipótese de que ocorre uma adaptação na atividade enzimática envolvida com os níveis de acetilação de histonas em hipocampo de ratos adultos jovens em resposta ao exercício forçado⁵.

É importante mencionar que quando essas análises foram realizadas em córtex frontal, os resultados foram diferentes⁶. Após a sessão única de corrida, observou-se um aumento na atividade da HAT. Entretanto, a atividade da HDAC não diferiu entre o grupo exercitado e sedentário após a intervenção. Por outro lado, o protocolo crônico induziu a uma redução significativa na HDAC sem modificar a atividade da HAT. Com isto, fica evidenciado que o exercício forçado pode influenciar os níveis de acetilação de histonas em encéfalo de ratos adultos jovens através da regulação das enzimas HAT e HDAC, sendo que essa modulação ocorre de maneira estrutura-dependente, variando em regiões como hipocampo e córtex frontal.

Tem sido descrito que o sedentarismo e os altos níveis de estresse são fatores cruciais associados com o desenvolvimento de transtornos mentais⁷. Por outro lado, o exercício físico é considerado uma importante estratégia tanto para a prevenção quanto para o manejo dessas condições⁸. Considerando que os mecanismos moleculares envolvidos com os efeitos benéficos do exercício sobre a saúde mental ainda não estão elucidados, um grupo de pesquisadores investigaram as mencionadas questões. Especificamente, avaliaram o efeito de um protocolo de exercício físico voluntário (livre acesso em roda de corrida durante quatro semanas) sobre parâmetros de ansiedade, expressão do receptor de glicocorticoide *Nrc1-1F* e níveis de metilação de DNA em hi-

pocampo de camundongos adultos jovens (linhagem C57BL/6). Após a intervenção, observaram um aumento na expressão hipocampal de *Nrc1-1F*, contudo, os níveis de metilação de DNA permaneceram inalterados⁹. Assim, sugere-se o envolvimento de outros marcadores epigenéticos, como parâmetros de acetilação de histonas, com os efeitos ansiolíticos e de redução de estresse promovidos pela prática de exercício físico.

Sabe-se que experiências estressantes reduzem significativamente a expressão do BDNF^{10,11,12}. Por outro lado, conforme mencionado previamente, o exercício físico é capaz de aumentar os níveis centrais dessa molécula. Com base em tais evidências, um estudo recente apontou a relação entre exercício físico, estresse, BDNF e a modulação de marcadores epigenéticos¹³. Os autores observaram que um modelo de estresse agudo de contenção reduziu significativamente os níveis hipocampais de BDNF em camundongos machos adultos jovens (linhagem C57BL/6J). Entretanto, esta situação foi revertida após os animais serem submetidos a um protocolo de exercício físico voluntário (livre acesso a roda de corrida durante quatro semanas). Os autores verificaram ainda que o incremento nos níveis de BDNF, após intervenção, pode ser explicado pelo aumento significativo nos níveis hipocampais de acetilação da histona H3 no grupo exercitado. Por outro lado, os níveis de dimetilação da histona 3 lisina 9 (H3K9) e trimetilação da histona 3 lisina 27 (H3K27), marcadores epigenéticos associados com o silenciamento gênico, não foram modificados em resposta ao exercício. Por fim, foi demonstrado que a administração de inibidores da HDAC (Valproato e Butirato de Sódio), previamente ao protocolo de estresse, aumenta os níveis de acetilação de histonas e previne o decréscimo nos níveis hipocampais de BDNF inicialmente reportado. Deste modo, segundo os autores, inibidores da HDAC parecem reproduzir os efeitos do exercício físico¹³.

É consenso que os efeitos do exercício físico sobre parâmetros comportamentais e diferentes marcadores bioquímicos, incluindo a modulação epigenética, varia de acordo com o modelo utilizado. Neste sentido, é pertinente ressaltar que as respostas obtidas nos dois estudos citados acima estão associadas com protocolos

voluntários de exercício físico. Diferentemente, Rodrigues e colegas¹⁴ avaliaram o impacto de um protocolo de exercício físico forçado sobre a alteração dos níveis de metilação de DNA em cérebro de ratos Wistar adultos jovens após serem submetidos ao modelo de estresse agudo de contenção.

Inicialmente, observou-se que o modelo de estresse induziu a uma hipometilação nos níveis de DNA em hipocampo, córtex e na substância cinzenta periaquedutal dos animais a nível basal. Por outro lado, os níveis de metilação de DNA mantiveram-se inalterados nas estruturas supracitadas de animais que foram submetidos a 20 sessões de natação (60 minutos cada sessão durante 5 dias na semana) comparado tanto ao grupo controle (animais que não foram submetidos a nenhuma intervenção) quanto ao grupo que foi submetido ao modelo de estresse. Em suma, os autores sugerem que o exercício físico forçado é capaz de atenuar a influência do estresse sobre a modulação dos níveis de metilação de DNA em cérebro de ratos adultos jovens¹⁴.

Parâmetros de ansiedade e depressão também demonstraram estar associados com a modulação de marcadores epigenéticos em resposta ao exercício físico. Um experimento conduzido com camundongos adultos machos (linhagem C57BL/6J) relatou efeitos ansiolíticos e antidepressivos em resposta a um protocolo voluntário de livre acesso à roda de corrida durante 6 meses. Os animais exercitados apresentaram um aumento significativo na expressão do gene do BDNF em hipocampo quando comparado ao grupo controle que, segundo os autores, deve-se ao decréscimo na expressão da histona H2A também observado nessa região após a intervenção¹⁵.

9.3 EFEITOS NO ENVELHECIMENTO

Outro aspecto relevante a ser considerado em relação aos efeitos do exercício físico sobre a maquinaria epigenética em cérebro é que essa modulação ocorre de forma idade-dependente. Nesse sentido, Lovatell e colegas¹⁶ observaram que um protocolo crônico de exercício forçado (corrida em esteira ergométrica

durante 14 dias, com sessões de 20 minutos/dia) induziu a um aumento nos níveis globais de acetilação da histona H4 em hipocampo de ratos Wistar adultos velhos 1 hora após a última sessão. Por outro, o treino não teve efeito sobre este marcador no grupo adulto jovem em nenhum dos tempos avaliados (1 hora, 18 horas, 3 e 7 dias após a última sessão). Os autores sugerem que o estado de hiperacetilação da histona H4 está associado, pelo menos em parte, com o aprimoramento das funções cognitivas em resposta ao exercício físico durante o processo de envelhecimento uma vez que esse marcador apresentou correlação positiva com a melhora da *performance* da memória observada no estudo após o treino.

Essa diferença relacionada com a idade também foi observada em marcadores de metilação de histona e DNA em resposta ao exercício. Em um estudo conduzido por Elsner e colegas¹⁷, ratos Wistar machos adultos jovens e envelhecidos foram submetidos a uma única sessão de exercício físico (corrida em esteira ergométrica durante 20 minutos) ou ao mesmo protocolo crônico citado anteriormente. Finalizados os treinos, avaliou-se o conteúdo hipocampal das enzimas DNMT1, DNMT3B e os níveis globais de metilação da H3K9 em diferentes tempos: 1 e 18 horas após a última sessão. Os autores observaram uma redução no conteúdo de ambas as enzimas, DNMT1 e DNMT3B, em hipocampo de ratos jovens exercitados 1 hora após a sessão única de exercício quando comparado ao grupo sedentário. Contudo, esses marcadores não foram alterados nos ratos envelhecidos em nenhum dos tempos avaliados. Ainda, o protocolo crônico de exercício não modificou o conteúdo de DNMT1 e DNMT3B em hipocampo de ratos adultos jovens e envelhecidos, sugerindo uma adaptação destes aos marcadores, independentemente da idade¹⁷.

Diferentemente, os níveis globais de metilação da H3K9 foram modulados tanto em resposta à sessão única quanto ao protocolo crônico, sendo que as respostas também diferiram entre as idades. Especificamente, a sessão única teve efeito oposto nas idades avaliadas, ou seja, reduziu esse marcador em hipocampo de ratos adultos jovens e aumentou no grupo envelhecido nos dois tempos

avaliados. Por outro lado, o protocolo crônico alterou (reduziu) os níveis hipocâmpais de H3K9 apenas no grupo adulto jovem¹⁷.

Conforme mencionado no primeiro capítulo deste livro, o efeito da metilação de histonas sobre a transcrição gênica depende de três fatores: da histona que foi metilada (H2A, H2B, H3 e H4), da lisina onde se acrescentou o grupo metil e do grau de metilação, ou seja, se ocorreu uma mono, di ou trimetilação. No caso da H3K9, tem sido descrito que a monometilação está associada com o aumento da atividade transcricional, enquanto que a di e trimetilação induzem à repressão e silenciamento gênico¹⁸.

Baseados nisso, os autores sugerem que ambos os protocolos de exercício reduziram os níveis de di e trimetilação da H3K9 em hipocampo de ratos adultos jovens, o que pode aumentar a expressão de genes específicos envolvidos com a plasticidade, sobrevivência neuronal e funções cognitivas¹⁷. Corroborando essa hipótese, o estudo conduzido por Gomez Pinilla e colegas, já citado previamente, demonstrou um aumento na expressão hipocâmpal do gene do BDNF em ratos machos adultos jovens após o exercício⁴.

Em relação ao grupo envelhecido, a ideia proposta pelos autores é de que a sessão única induz à monometilação da H3K9, impactando positivamente a atividade transcricional¹⁷. Assim, sugere-se que as lisinas das histonas também são metiladas em resposta ao exercício como diferentes padrões (mono, di ou trimetilação), dependendo da idade.

Além desses dados obtidos com ratos durante o processo de envelhecimento fisiológico, existe um estudo disponível na literatura reportando aos efeitos do exercício em um modelo experimental de Doença de Alzheimer¹⁹, o qual é denominado senescência acelerada (SAMP8).

Neste modelo, os camundongos apresentam comprometimento cognitivo e déficits comportamentais, além de alterações bioquímicas/moleculares no encéfalo como superprodução da proteína beta-amiloide e aumento do estresse oxidativo²⁰⁻²³.

Os autores¹⁹ mostraram que camundongos fêmeas SAMP8 sedentários apresentam níveis inferiores de acetilação global da

histona H3 e expressão reduzida do gene do BDNF em hipocampo comparado ao grupo controle. Contudo, esses parâmetros foram revertidos após os animais serem submetidos a um protocolo de exercício voluntário de livre acesso à roda de corrida durante 6 meses. Após a intervenção, observou-se um estado de hiperacetilação da histona H3 e um aumento significativo na expressão hipocampal de BDNF nos camundongos fêmeas SAMP8. Por outro lado, os níveis de acetilação global da histona H4 não diferiram entre os grupos sedentários e nem em resposta ao exercício. Desta forma, sugere-se maior envolvimento e especificidade da histona H3 com a fisiopatologia da Doença de Alzheimer. Outros estudos são necessários para melhor elucidar esta questão. Para finalizar, os autores reforçam a idéia de que o exercício físico é uma promissora estratégia terapêutica no manejo de doenças neurodegenerativas como a Doença de Alzheimer, sendo que a modulação de marcadores epigenéticos está relacionada como seus efeitos benéficos sobre a função cerebral.

9.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, ao analisar e interpretar os achados reportados nos estudos citados neste capítulo, pode-se concluir que o exercício físico é um fator ambiental capaz de modular marcadores epigenéticos em encéfalo de ratos em diferentes fases do desenvolvimento. Como consequência, observa-se mudança na expressão de genes relacionados com aspectos cognitivos, ansiedade e estresse, por exemplo. Entretanto, deve-se considerar que essa modulação ocorre de forma estrutural e protocolo-dependente, bem como varia de acordo com a idade. Considerando que a maioria desses estudos foi conduzida com roedores durante a fase adulta e em processo de envelhecimento, aponta-se para a necessidade da realização de novas investigações durante os estágios iniciais do desenvolvimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abel JL, Rissman EF (2013) Running-induced epigenetic and gene expression changes in the adolescent brain. *Int J Dev Neurosci* 31 (6):382-390.

2. Poo MM (2001) Neurotrophins as synaptic modulators. *Nat Rev Neurosci* 2 (1):24-32.
3. Binder DK, Scharfman HE (2004) Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors* 22 (3):123131
4. Gomez-Pinilla F, Zhuang Y, Feng J, Ying Z, Fan G (2011) Exercise impacts brain-derived neurotrophic factor plasticity by engaging mechanisms of epigenetic regulation. *Eur J Neurosci* 33 (3):383-390.
5. Elsner VR, Lovatel GA, Bertoldi K, Vanzella C, Santos FM, Spindler C, de Almeida EF, Nardin P, Siqueira IR (2011) Effect of different exercise protocols on histone acetyltransferases and histone deacetylases activities in rat hippocampus. *Neuroscience* 192:580-587.
6. Spindler C, Cechinel LR, Basso C, Moyses F, Bertoldi K, Roesler R, Lovatel GA, Rostiola Elsner V, Siqueira IR (2014) Treadmill exercise alters histone acetyltransferases and histone deacetylases activities in frontal cortices from wistar rats. *Cell Mol Neurobiol* 34 (8):1097-1101.
7. Blair SN (2009) Physical inactivity the biggest public health problem of the 21st century. *Br J Sports Med.* 43(1):1-2.
8. NICE (2011) Common Mental Health Disorders: Identification and pathways to care. CG123. London: National Institute for Health and Care Excellence.
9. Pan-Vazquez A, Rye N, Ameri M, McSparron B, Smallwood G, Bickerdyke J, Rathbone A, DajasBailador F, Toledo-Rodriguez M (2015) Impact of voluntary exercise and housing conditions on hippocampal glucocorticoid receptor, miR-124 and anxiety. *Mol Brain.* 2;8:40.
10. Popoli M, Gennarelli M, Racagni G (2002) Modulation of synaptic plasticity by stress and antidepressants. *Bipolar Disord* 4:166-182.
11. Duman RS, Monteggia LM (2006) A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 59:1116-1127.
12. Bath KG, Schilit A, Lee FS (2013) Stress effects on BDNF expression: Effects of age, sex, and form of stress. *Neurosci.* 239:149-156.
13. Ieraci A, Mallei A, Musazzi L, Popoli M (2015) Physical exercise and acute restraint stress differentially modulate hippocampal brain-derived neurotrophic factor transcripts and epigenetic mechanisms in mice. *Hippocampus* 25(11):1380-92.
14. Rodrigues GM Jr, Toffoli LV, Manfredo MH, Francis-Oliveira J, Silva AS, Raquel HA, MartinsPinge MC, Moreira EG, Fernandes KB, Pelosi GG, Gomes MV (2015) Acute stress affects the global DNA methylation profile in rat brain: modulation by physical exercise. *Behav Brain Res.* 15;279:123-8.
15. Aguiar AS Jr, Stragier E, da Luz Scheffer D, Remor AP, Oliveira PA, Prediger RD, Latini A, Raisman-Vozari R, Mongeau R, Lanfumey L (2014) Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anxiety-depressive behavior of mice. *Neurosci.* 20;271:56-63.

16. Lovatel GA, Elsner VR, Bertoldi K, Vanzella C, Moysés Fdos S, Vizuete A, Spindler C, Cechinel LR, Netto CA, Muotri AR, Siqueira IR (2013) Treadmill exercise induces age-related changes in aversive memory, neuroinflammatory and epigenetic processes in the rat hippocampus. *Neurobiol Learn Mem.* 101:94-102.
17. Elsner VR, Lovatel GA, Moysés F, Bertoldi K, Spindler C, Cechinel LR, Muotri AR, Siqueira IR (2013) Exercise induces age-dependent changes on epigenetic parameters in rat hippocampus: a preliminary study. *Exp Gerontol.* 48(2):136-9.
18. Gupta S, Kim SY, Artis S, Molfese DL, Schumacher A, Sweatt JD (2010) Histone methylation regulates memory formation. *J. Neurosci.* 30, 3589–3599.
19. Cosín-Tomás M, Alvarez-López MJ, Sanchez-Roige S, Lalanza JF, Bayod S, Sanfeliu C, Pallàs M, Escorihuela RM, Kaliman P (2014) Epigenetic alterations in hippocampus of SAMP8 senescent mice and modulation by voluntary physical exercise. *Front Aging Neurosci.* 20;6:51.
20. Cheng XR, Zhou WX, Zhang YX (2013) The behavioral, pathological and therapeutic features of the senescence-accelerated mouse prone8 strain as an Alzheimer's disease animal model. *Ageing Res.Rev.* 13C, 13–37.
21. Wang H, Lian K, Han B, Wang Y, Kuo SH, Geng Y (2013) Age-related alterations in the metabolic profile in the hippocampus of the senescence- accelerated mouse prone8: a spontaneous Alzheimer's disease mouse model. *J. Alzheimers Dis.* 39, 841–848.
22. Morley JE, Ambrecht HJ, Farr SA, Kumar VB (2012) The senescence accelerated mouse (SAMP8) as a model for oxidative stress and Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys.Acta* 1822, 650–656.
23. Takeda T (2009) Senescence-accelerated mouse (SAM) with special references to neurodegeneration models SAMP8 and SAMP10 mice. *Neurochem. Res.* 34, 639–659.

10. EXERCÍCIO E MODULAÇÃO EPIGENÉTICA: ESTUDOS CLÍNICOS

*Anelise Ineu Figueiredo
João José Cunha da Silva
Viviane Rostirola Elsner
Maristela Padilha de Souza*

Frente a outras espécies, o sucesso do ser humano dentro do processo evolutivo se deve, em grande parte, a sua capacidade de adaptação a adversidades ambientais. Neste sentido, o aprimoramento do movimento de segmentos corporais e sua eficiência de execução estavam e estão, até hoje, relacionados com a sobrevivência de nossa espécie¹. Nosso sistema biológico é capaz de responder tanto de forma aguda quanto crônica ao estresse metabólico gerado pelo aumento de demanda de energia imposta pelo esforço físico. Essas respostas envolvem direta ou indiretamente todos os sistemas fisiológicos, e a magnitude das mesmas dependerá de uma série de variáveis, como as características do exercício físico, idade, gênero, status nutricional e condições ambientais nas quais o mesmo é executado. Deste modo, observa-se uma íntima relação do exercício físico com a regulação de vias de sinalização celular envolvidas em processos de adaptações, metabólicas e funcionais. Dentro deste contexto, estudos envolvendo a epigenética têm sistematicamente utilizado o exercício físico como um modelo para avaliação de alterações na expressão gênica tanto na saúde quanto na doença².

A literatura tem demonstrado que o estímulo fisiológico desencadeado pelo treinamento físico é capaz de modular padrões epigenéticos em indivíduos saudáveis, e portadores de patologias crônicas em diferentes fases do desenvolvimento, conforme será abordado a seguir.

10.1 EXERCÍCIO E MODULAÇÃO EPIGENÉTICA EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Em um grupo de jovens saudáveis de ambos os sexos, o qual foi aplicado um protocolo de treinamento contra resistido de três meses foram observadas, através de biópsia de tecido muscular, alterações significantes em variáveis epigenéticas como a metilação de ácido desoxirribonucleico (DNA). Interessantemente, um aumento da metilação estava associado ao metabolismo da glicose e remodelamento da fibra muscular, enquanto uma diminuição da metilação foi associada à sinalização de elementos envolvidos em processos inflamatórios. Deste modo, é importante ressaltar que eventos de hipometilação e hipermetilação de DNA podem ocorrer concomitantemente, o que justificaria, deste modo, as diferentes respostas fisiológicas promovidas pelo exercício físico³.

Além disso, a intensidade do exercício também parece influenciar nas respostas epigenéticas. Indivíduos sedentários que executaram uma sessão única de exercício em cicloergômetro a 80% do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{máx}}$) apresentaram diminuição da metilação de DNA da região promotora de determinados genes relacionados ao metabolismo energético, tais como o coativador 1 de receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PGC-1 α), o fator de transcrição mitocondrial A (TFAM) e do fator estimulador de miócitos 2A (MEF2A), imediatamente após a execução do exercício. A magnitude das respostas epigenéticas parece ser também tempo dependente, pois nesse estudo a diminuição na metilação do PPAR- δ (importante fator de transcrição para elementos do metabolismo energético relacionados aos lipídios) se mostrou alterada somente após três horas do término do exercício⁴.

A literatura já demonstrou que alterações epigenéticas podem influenciar na herança transgencional em mamíferos. Em um estudo realizado com indivíduos do sexo masculino após três meses de intervenção com exercício físico intervalado, sempre com *sprints* com intensidade máxima (de 3 a 6 por sessão) intercalados com 4 minutos de recuperação passiva, após três meses de

treinamento, os indivíduos apresentaram mudanças na metilação global do esperma, inclusive metilação em genes relacionados ao desenvolvimento de doenças como Alzheimer, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão e aterosclerose, dentre eles o fator de crescimento semelhante à insulina-2 (IGF-2) e o da proteína insulina isoforma 2 (INS-IGF2). Esses resultados indicaram um quadro de silenciamento transcricional fornecendo, portanto, a primeira evidência de que o exercício pode reprogramar o esperma através da maquinaria epigenética. Apesar disso, os autores salientam que são necessários mais estudos para avaliar se essas mudanças serão herdadas pelas futuras gerações⁵.

Sabe-se que o processo de inflamação é resultado de uma resposta extremamente complexa de nosso sistema biológico a situações de estresse. A magnitude e as consequências (a curto ou longo prazo) dessa resposta dependerão do tipo e tempo de duração do estresse. Sendo assim, observa-se que os processos inflamatórios estão envolvidos no desenvolvimento de diversas doenças, dentre elas as cardiovasculares. O exercício físico já demonstrou contribuir para a redução no desenvolvimento de risco cardiovascular, porém ainda falta uma compreensão dos mecanismos em nível celular que conduzam tal processo. Em um estudo recente, 12 jovens saudáveis do sexo masculino com idades entre 18 e 24 anos foram submetidos a 4 semanas de treinamento através de *sprint*. O protocolo teve uma frequência de 3 treinos semanais, iniciando com 3 *sprints* por sessão de treino e terminando com 8 *sprints* na última sessão (sempre com intervalo passivo de 4 minutos). Analisando amostras sanguíneas, observou-se que diversas ilhas citosina fosfato guanina (CpG) foram desmetiladas após o exercício, mais especificamente, em genes do fator de crescimento epidérmico (EGF) e glicosilase de uracil-DNA que se relacionam à saúde cardiovascular hipometilaram de forma diferenciada, o que demonstra um aumento na transcrição de genes. Assim, esse estudo demonstrou que o exercício físico pode contribuir positivamente para saúde do sistema cardíaco⁶.

Em outro estudo, os participantes foram divididos em três grupos: jovens controle, idosos controles e idosos submetidos a um

programa de treinamento intervalado por seis meses (3 minutos de caminhada de baixa intensidade (40% da capacidade aeróbio) alternados por 3 minutos a 70% da capacidade aeróbia máxima, numa frequência mínima de 2 vezes por semana). Os autores observaram que os níveis de metilação da proteína puntiforme associada à apoptose (ASC) reduziram consideravelmente com a idade. Porém, comparando os grupos mais velhos controles e mais velhos exercitados, o grupo exercitado mostrou aumento na metilação da ASC, o que implica em supressão de genes pró-inflamatórios⁷.

Por fim, outro estudo analisou a relação entre modulação epigenética e uma única sessão de treinamento. Oito homens saudáveis e treinados realizaram uma sessão de treino com duração de 120 minutos, correndo a 60% do Vo_2 máx com *sprints* a 90% do Vo_2 máx nos últimos 30 segundos a cada 10 minutos. Não ocorreram mudanças significativas nos níveis globais de metilação de DNA, porém alterações nas concentrações de interleucina 6 (IL-6) foram observadas, sendo que essas relacionaram-se ao estado de metilação de 11 genes específicos. Dentre eles, destaca-se a proteína cinase associada ao receptor de interleucina 3 (IRAK3), que é um gene inibidor de inflamação, relacionado à obesidade e síndrome metabólica. O estudo demonstrou, portanto, que embora o estado de metilação global de DNA tenha permanecido estável, genes específicos sofreram alterações, demonstrando a necessidade de um estudo mais aprofundado relacionando as concentrações de IL-6 aos níveis de metilação de DNA em resposta ao exercício⁸.

10.2 EXERCÍCIO E MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NAS DOENÇAS METABÓLICAS E OBESIDADE

Existem evidências na literatura de que o exercício físico contribui positivamente em diversos parâmetros fisiológicos que atuam tanto na prevenção quanto no tratamento de várias doenças. Dentre estes benefícios, se destaca a influência do exercício na modulação da composição corporal e perfil lipídico. Embora os mecanismos envolvidos nessa modulação ainda não estejam bem descritos, vários estudos apontam para uma possível interferência

de variáveis epigenéticas. Neste contexto, foi realizado um estudo com homens saudáveis no qual 15 tinham histórico familiar de DM2 e 16 não tinham. Os autores avaliaram o efeito de um programa de 6 meses de exercício físico (uma hora de exercício aeróbico duas vezes na semana e uma hora de *spinning* uma vez na semana) na metilação do DNA e expressão de genes do tecido adiposo. Foram encontradas alterações nos níveis de metilação do DNA em 21 genes relacionados à obesidade e DM2, dentre eles: *hematopoietically expressed homeobox* (HHEX) *Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2* (IGF2BP2), *Juxtaposed with another zinc finger protein 1* (JAZF1) e *Transcription factor 7-like 2* (TCF7L2). Isso demonstra a que o exercício físico modula o metabolismo dos adipócitos via adaptações na metilação do DNA⁹.

A obesidade é um importante fator de risco para o desenvolvimento de diabetes. Além disso, indivíduos com uma elevada predisposição genética para a DM2 são caracterizados pela aptidão física reduzida. Dentro deste contexto, o exercício é benéfico para melhorar a sensibilidade à insulina e para prevenir ou retardar o aparecimento dessa condição clínica¹⁰. Um estudo avaliou a metilação do DNA do genoma no músculo esquelético humano de indivíduos, com ou sem histórico familiar de DM2, a partir de uma intervenção por 6 meses de exercícios aeróbios. Os autores observaram uma diminuição da metilação do DNA de *Runrelated transcription factor 1* (RUNX1) e *Myocyte Enhancer Factor 2A* (MEF2A), genes estes envolvidos em respostas adaptativas ao treinamento físico. Além disso, o mesmo padrão se apresentou para os genes *thyroid adenoma-associated* (THADA), associados com DM2, *NADH Dehydrogenase (Ubiquinone) 1, Subcomplex Unknown e 2* (NDUFC2), envolvidos na transcrição de elementos da cadeia respiratória. Este estudo ainda demonstrou que o exercício alterou tanto a metilação do DNA quanto expressão de genes, incluindo as do receptor da adiponectina 1 e 2 (AdipoR1 e AdipoR2) e do receptor de bradicinina B2 (BDKRB2), receptores de codificação para adiponectina e bradicinina, respectivamente, que regulam o metabolismo de carboidratos no músculo. Deste modo, observa-se que o exercício induz alterações do genoma através da metilação

do DNA no músculo esquelético humano; no entanto, a resposta pode ser diferente devido à predisposição genética para o DM2¹¹.

Indivíduos obesos, após 10 sessões de exercício intervalado de alta intensidade, apresentaram um aumento nos níveis IL-6, interleucina 10 (IL-10) e fator de transformação do crescimento-beta (TGF- β) concomitante com um aumento na HDAC global imediatamente após o exercício. Esses dados sugerem que os efeitos do exercício sobre o sistema imune podem ser relacionados com a modulação da atividade da HDAC nesta população¹².

Ainda com relação ao papel do exercício físico na modulação de parâmetros epigenéticos associados com a obesidade, foi demonstrado que os níveis de HDAC4 foram significativamente reduzidos em PBMCs e tecido adiposo de obesos em resposta a um programa de treinamento aeróbico de intensidade moderada e exercícios resistidos. Após 3 meses de intervenção, a expressão HDAC4 foi aumentada em níveis parecidos aos encontrados em indivíduos eutróficos e correlacionados com aumento significativo nos níveis sistêmicos da citocina anti-inflamatória IL-10. Além disso, a expressão de HDAC4 barrou a ativação do fator de transcrição nuclear kappa-B (NF-kB) em resposta ao fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) estabelecendo, assim, uma ligação entre HDAC4 e regulação do sistema imune. Isso demonstra que a HDAC4 possui um papel protetor contra a obesidade. Ela poderia ser um possível alvo terapêutico para o controle e tratamento da obesidade e da resistência à insulina¹³.

Os estudos com a proposta de revisões de literatura são excelentes por apresentarem um panorama atualizado através da avaliação de um grande número de pesquisas acerca de um mesmo tema. Neste contexto, em função de que estudos que avaliam parâmetros epigenéticos em humanos sejam relativamente escassos, algumas publicações com essa metodologia têm merecido destaque na literatura. Com relação aos efeitos do exercício em humanos e animais com DM2 e suas associações com a genética e epigenética, observa-se que cerca de 15 a 20% das pessoas não conseguem melhora metabólica com o exercício. Acredita-se que isso se deva a fatores genéticos e epigenéticos, pois a hipometilação do DNA

pode ser associada com a capacidade de resposta da musculatura esquelética ao exercício resistido. Essa modificação epigenética pode, futuramente, sinalizar qual tipo de treinamento físico que o indivíduo apresentará melhores respostas adaptativas¹⁴. Além disso, a intervenção com exercício pode diminuir a metilação do DNA de genes promotores da regulação do metabolismo em humanos, melhorando parâmetros relacionados à biogênese mitocondrial, ao perfil inflamatório e ao estresse oxidativo¹⁵.

10.3 EXERCÍCIO E MODULAÇÃO EPIGENÉTICA NO CÂNCER

A literatura tem buscado analisar de que forma o exercício físico pode auxiliar no tratamento do câncer sendo que estudos atuais evidenciam que uma das possíveis formas de modulação seja através de parâmetros epigenéticos.

Já foi descrito uma correlação positiva e significativa entre pacientes com câncer e hábitos relacionados à qualidade de vida dos mesmos, sugerindo que a alimentação e o exercício físico podem influenciar nos níveis de metilação de DNA. Esses achados sugerem que a maquinaria epigenética possa exercer modulação no desenvolvimento de tipos específicos de câncer¹⁶.

O treinamento físico cada vez mais tem sido utilizado em protocolos de reabilitação de pacientes com câncer. Um estudo avaliou o efeito de uma sessão única de exercício em cicloergômetro (durante 30 minutos) nessa população. Os autores observaram, em soro isolado de amostra sanguínea, uma redução nos níveis de acetilação da histona 3 lisina 9 (H3K9), com consequente diminuição na transcrição de células *natural killers* (NK). Ainda, foram encontrados níveis aumentados de IL-6 e do fator de inibição da migração de macrófagos (MIF). Cabe ressaltar que o aumento de citocinas inflamatórias através do exercício parece ser positivo, pois em longo prazo provoca mediação e redução de biomarcadores pró inflamatórios¹⁷.

Neste quadro, em um interessante estudo em que indivíduos (com câncer e controles) foram avaliados após participarem de

uma meia-maratona, a avaliação aguda demonstrou acetilação de histonas em células NK, levando a uma redução na concentração das mesmas no sistema periférico e uma possível migração para os tecidos, auxiliando desse modo o combate a células tumorais. O estudo sugere, portanto, que o exercício físico, através da regulação de células NK, a partir de uma modulação epigenética, é capaz de contribuir para diminuição do risco de câncer e taxas de recorrência¹⁸.

O câncer de mama é um dos principais tipos de câncer que acometem a população feminina e, sendo assim, estudos que promovam a elucidação dos mecanismos do seu desenvolvimento como também de possíveis terapias são extremamente relevantes e possuem destaque na literatura. Em uma pesquisa realizada com mulheres, a utilização de um protocolo de exercício aeróbico moderado com duração de seis meses após diagnóstico de câncer de mama demonstrou uma correlação positiva nos resultados de sobrevivência à doença. Isso ocorreu através da redução da metilação de DNA em três genes específicos; *glutamato desidrogenase 1* (GLUD 1), *Lethal (3) malignant brain tumor-like protein* (L3MBTL) e *MSH homeobox 1* (MSX1). Sabe-se que a diminuição nos níveis de metilação leva a aumento da transcrição; nesse caso, de genes supressores de tumores, demonstrando que o exercício físico, através da alteração de fatores epigenéticos, contribuiu para a sobrevivência ao câncer de mama¹⁹.

10.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora exista um crescente interesse pela temática que envolve a influência do exercício físico na modulação de variáveis epigenéticas, muitos aspectos ainda necessitam ser elucidados. Os resultados apresentados na literatura refletem uma grande variabilidade de protocolos de exercícios físicos utilizados (tipo, intensidade e tempo de duração) e de populações estudadas (gênero, idade, raça, estado de saúde).

Contudo, de um modo geral, observa-se que a modulação epigenética em resposta ao exercício está associada aos efeitos

benéficos e protetores de sua prática, tanto em indivíduos saudáveis quanto em portadores de patologias. Outros estudos devem ser realizados no intuito de definir os protocolos ideais para cada tipo de população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mattson, M.P. Evolutionary Aspects of Human Exercise – Born to Run Purposefully (2012). *Ageing Res Rev.* 11(3): 347–352.
2. Pareja-Galeano, H; Sanchis-Gomar, F; Garcia-Giménez, J.L (2014). Physical Exercise and Epigenetic Modulation: Elucidating Intricate Mechanisms.. *Sports Med.* 44:429–436.
3. Indholm, M. E; Marabita, F; Gomez-Cabrero, D; Rundqvist, H; Ekström, T. J; et al (2014). An integrative analysis reveals coordinated reprogramming of the epigenome and the transcriptome in human skeletal muscle after training. *Epigenetics* 9:12, 1557–1569.
4. Barre, R; Yan, J; Egan, B; Treebak, J. T; Rasmussen, M; Fritz, T; et al. (2012) Exercise Remodels Promoter Methylation in Human Skeletal Muscle. *Cell Metabolism*, 15 (7), 405–411.
5. Denham, J; O’Brien, B.J; Harvey, J.T; Charchar, F.J. Genome-wide sperm DNA methylation. changes after 3 months of exercise training in humans (2015) *Epigenomics.* 7(5):717-31.
6. Denham J, O’Brien J O, Marques F Z, Charchar F J. Changes in the leukocyte methylome and its effect on cardiovascular-related genes after exercise. (2015) *Journal of Applied Physiology* 118 (4): 475-488.
7. Nakajima K, Takeoka M, Mori M, Hashimoto S, Sakurai A; et al.(2010) . Exercise effects on methylation of ASC gene. *International Journal of Sports Medicine* 31 (9): 671-675.
8. Robson-Ansley P J, Saini A, Toms S, Ansley L, Walshe I; et al (2014). Dynamic changes in DNA methylation status in peripheral blood mononuclear cells following an acute bout of exercise: potential impact of exercise-induced elevations in interleukin-6 concentration. *Journal Of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, 28 (3): 407-41.
9. Ronn, T.; Volkov, P.; Cajsá Davega, C.; Dayeh, T.; Hall, E.; et al. (2013). Six Months Exercise Intervention Influences the Genome-wide DNA Methylation Pattern in Human Adipose Tissue. *PLOS Genetics.* 9(6): e1003572.
10. Rönn, T.; Ling, C. (2015). DNA methylation as a diagnostic and therapeutic target in the battle against Type 2 diabetes. *Epigenomics.* 7(3):451-60.

11. Nitert, M.D.; Dayeh, T.; Volkov, P.; Elgzyri, T.; Hall, E.; et al. Hansson, O.; Eriksson, K.F.; Groop, L.; Ling, C. (2012). Impact of an Exercise Intervention on DNA Methylation in Skeletal Muscle From First-Degree Relatives of Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 61(12):3322-32.
12. Dorneles, G.P.; Silva, I.R.V.; Korb, A.; Bertoldi, K.; Siqueira, I.R.; et al. High intensity interval exercise enhances the global HDAC activity in PBMC and anti-inflammatory cytokines of overweight-obese subjects *Obesity medicine*. 2(6):25-30.
13. Abu-Farha, M., Tiss, A., Abubaker Khadir, A., Al-Ghimlas, F., Al-Khairi, I., Baturcam, E., Cherian, P., et al., (2013). Proteomics analysis of human obesity reveals the epigenetic factor HDAC4 as a potential target for obesity. *PLoS One* 8 (9), e75342.
14. Stephens, N.A. Sparks, L.M. Resistance to the beneficial effects of exercise in type 2 diabetes: are some individuals programmed to fail? (2015). *Journal Clin Endocrinol Metab*. 100(1):43-52.
15. Cheng, Z.; Almeida, F.A. Mitochondrial alteration in type 2 diabetes and obesity (2014). *An epigenetic link. Cell Cycle* 13:6, 890–897.
16. Yuasa Y, Nagasaki H, Akiyama Y, Hashimoto Y, Takizawa, Kojima K, et al. (2009). DNA methylation status is inversely correlated with green tea intake and physical activity in gastric cancer patients. *International Journal of Cancer* 124 (11): 2677-2682.
17. Zimmer P, Baumann F T, Bloch W, Schenk A, Koliymitra C; et al. (2014). Impact of exercise on pro inflammatory cytokine levels and epigenetic modulations of tumor-competitive lymphocytes in Non-Hodgkin-Lymphoma patients-randomized controlled trial. *European Journal of Haematology* 93 (6):527-532.
18. Zimmer P, Bloch W, Schenk E, Zopf E M, Hildebrandt U; et al.(2015). Exercise-induced Natural Killer Cell Activation is Driven by Epigenetic Modifications. *International Journal of Sports Medicine* 36 (6): 510-515.
19. Zeng H, Irwin M L, Lu L, Risch H, Mayne S; et al (2012). Physical activity and breast cancer survival: an epigenetic link through reduced methylation of a tumor suppressor gene L3MBTL1. *Breast Cancer Research and Treatment* 133 (1): 127-135.

SOBRE OS AUTORES

ALESSANDRA PERES

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), mestrado em Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), doutorado em Genética e Biologia Molecular pela UFRGS e pós-doutorado em Geriatria e Gerontologia pela PUCRS. Atualmente é professora do Centro Universitário Metodista-IPA, atuando na graduação e no PPG stricto sensu Biociências e Reabilitação. É professora adjunta II da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre e no PPG stricto sensu Ciências da Reabilitação. Coordena o Núcleo de Estudos em Exercício Físico e Imunologia.

ALYSSON RENATO MUOTRI

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e doutorado em Genética pela Universidade de São Paulo (USP). Fez pós-doutoramento em Neurociências e Células-tronco pelo Instituto Salk de Pesquisas Biológicas nos EUA. Atualmente é professor da faculdade de Medicina da Universidade da Califórnia, San Diego (UCSD) nos EUA, onde lidera um grupo de pesquisa em neurodesenvolvimento e evolução do cérebro humano. Também é diretor do programa de Células-tronco da UCSD.

ANELISE INEU FIGUEIREDO

Possui graduação em Fisioterapia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Atualmente é mestranda em Biociências e Reabilitação do Centro Universitário Metodista-IPA. É membra do Grupo de Estudo Interdisciplinar de Epigenética Aplicada à Saúde e a Doença e do Núcleo de Estudos de Fisiologia e Bioquímica do Movimento (NEFBIM) desta Instituição.

CAROLINE DALLAZEN LAVRATTI

Possui graduação em Fisioterapia pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI- Campus de Erechim. É especialista em Fisioterapia Oncofuncional pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI- Campus de Erechim e, atualmente,

mestranda em Biociências e Reabilitação pelo Centro Universitário Metodista-IPA. É membra do Grupo de Estudos Interdisciplinar de Epigenética Aplicada à Saúde e à Doença desta Instituição.

GILSON PIRES DORNELES

É bacharel em Educação Física pelo Centro Universitário Metodista-IPA, especialista em Fisiologia do Exercício pela Escola de Educação Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (EsEF-UFRGS) e mestre em Biociências e Reabilitação pelo Centro Universitário Metodista-IPA. Atualmente é aluno de doutorado em Ciências da Saúde com ênfase em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). É membro do Laboratório de Imunologia Celular e Molecular e do Núcleo de Estudos em Exercício Físico e Imunologia. Sua linha de pesquisa envolve aspectos moleculares e celulares em respostas agudas e adaptações crônicas ao exercício físico, imunologia e fisiologia do exercício e treinamento físico em doenças crônico-degenerativas não transmissíveis.

GUSTAVO PEREIRA REINALDO

Graduado em Fisioterapia pelo Centro Universitário Metodista - IPA, com período sanduíche na Faculdade de Motricidade Humana (FMH) da Universidade de Lisboa (UL). Atualmente é mestrando em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA) e membro do Grupo de Estudo Interdisciplinar de Epigenética Aplicada à Saúde e à Doença do IPA e Grupo de Pesquisa em Interação Cardiopulmonar da UFCSPA.

IONARA RODRIGUES SIQUEIRA

Possui graduação em Biologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), mestrado e doutorado em Ciências Biológicas: Fisiologia pela UFRGS. Atualmente atua na graduação e nos Programas de Pós-Graduação Ciências Biológicas (CB): Fisiologia e CB Farmacologia e Terapêutica. É bolsista produtividade CNPq Nível 2, coordena o Laboratório de Neuropsicofarmacologia e é líder do grupo de pesquisa Exercício Físico como Estratégia Protetora – CNPq.

IVY REICHERT VITAL DA SILVA

Possui graduação em Biomedicina pela Universidade Feevale - Novo Hamburgo, é especialista em Hematologia e Hemoterapia pela Universidade Feevale - Novo Hamburgo e membra da Associação Brasileira em Hematologia e Hemoterapia (ABHH). Atualmente é mestranda do PPG stricto sensu Biociências e Reabilitação do Centro Universitário

Metodista – IPA e integrante do Grupo de Estudo Interdisciplinar de Epigenética Aplicada à Saúde e à Doença desta Instituição.

JOÃO JOSÉ CUNHA DA SILVA

Possui graduação em Licenciatura Plena em Educação Física pelo Centro Universitário Metodista - IPA e é especialista em Fisiologia do Exercício e Prescrição de Treinamento pela Universidade Estácio de Sá. Atualmente é mestrando no PPG stricto sensu Biociências e Reabilitação Centro Universitário Metodista - IPA. É integrante do Grupo de Estudo Interdisciplinar de Epigenética Aplicada à Saúde e à Doença e do Núcleo de Estudos em Fisiologia e Bioquímica do Movimento Humano no Centro Universitário Metodista - IPA.

KARINE BERTODI

Possui graduação em Enfermagem pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), mestrado em Ciências Biológicas: Fisiologia pela UFRGS. Atualmente é aluna de doutorado no Programa de Pós-Graduação Ciências Biológicas: Fisiologia – UFRGS. Trabalha como enfermeira no Serviço de Radiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. É membra do Laboratório de Neuropsicofarmacologia do Departamento de Farmacologia na UFRGS.

LAURA RECK CECHINEL

Possui graduação em Biomedicina pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), mestrado em Ciências Biológicas: Fisiologia pela UFRGS. Atualmente é aluna de doutorado no Programa de Pós-Graduação Ciências Biológicas: Fisiologia – UFRGS. É membra do Laboratório de Neuropsicofarmacologia do Departamento de Farmacologia na UFRGS.

LUCIANE CARNIEL WAGNER

Possui graduação em Medicina pela Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre (FFFCMPA) - atual Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). É especialista em Psiquiatria (Residência Médica) pela FFFCMPA, tem mestrado e doutorado em Psiquiatria pela Universidad de Granada/Espanha, títulos revalidados pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). É psiquiatra clínica de orientação humanista (consultório privado desde 2001) e professora titular do Centro Universitário Metodista-IPA, atuando na graduação e nos PPGs stricto sensu Biociências e Reabilitação e Reabilitação e Inclusão. Suas pesquisas abordam os seguintes temas: relações familiares e sociais na pós-modernidade; inclusão social de pessoas com transtornos mentais de longa evolução.

MARISTELA PADILHA DE SOUZA

Possui graduação em Educação Física pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS, 1990), mestrado em Ciências Biológicas (Fisiologia) pela UFRGS (2001) e doutorado em Ciências Biológicas (Fisiologia) pela UFRGS (2005). Atualmente é professora titular do Centro Universitário Metodista-IPA, atuando na graduação e nos PPGs stricto sensu Biociências e Reabilitação e Reabilitação e Inclusão. Coordena o Núcleo de Estudos de Fisiologia e Bioquímica do Movimento nesta Instituição.

ROBERTA PASSOS PALAZZO

Possui graduação em Biomedicina pela Universidade Feevale, mestrado em Medicina: Ciências Médicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Atualmente é doutoranda no Programa de Pós Graduação em Farmacologia e Terapêutica.

VIVIANE ROSTIROLA ELSNER

Possui graduação em Fisioterapia pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI- Campus de Erechim, mestrado e doutorado em Ciências Biológicas: Fisiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Atualmente é professora titular do Centro Universitário Metodista-IPA, atuando na graduação e no PPG stricto sensu Biociências e Reabilitação. Coordena o Grupo de Estudo Interdisciplinar de Epigenética Aplicada à Saúde e a Doença na Instituição.

ARTE: Capa e desenhos

Ana Kelly Vogt Kommers

Possui graduação em Design Gráfico pelo Centro Universitário Ritter dos Reis/UniRitter, Porto Alegre/RS.