

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO JOSÉ
CURSO DE BIOLOGIA

BRUNA DOS SANTOS SHIBAFUJI
LUÃ CARDOSO

METILAÇÃO DO DNA

Rio de Janeiro
2021.1

METILAÇÃO DO DNA
DNA METHYLATION

Bruna dos Santos Shibafuji

Graduando (a) do Curso de Biologia do Centro Universitário São Jose.

Luã Cardoso de Oliveira

Prof. Dr. Em Pesquisa clínica em doenças infecciosas

RESUMO

Conforme os avanços nas pesquisas genéticas descobriu-se que os organismos vivos sofrem alterações fenotípicas sem mudanças no genótipo. Esse fenômeno ficou conhecido como marcas ou mudanças epigenéticas. Os principais mecanismos epigenéticos são a metilação do DNA e as modificações de histonas. A metilação do DNA é um processo químico físico que tem função reguladora do gene que promove o silenciamento de certos genes e ativa outros. Essa alteração interfere diretamente no processo de transcrição e de tradução das proteínas a partir das informações contidas no DNA. As marcas epigenéticas possuem importância essencial na programação correta da expressão genética. Pequenas falhas ou alterações aberrantes nas marcas epigenéticas podem causar patologias reversíveis ou crônicas. A hipometilação ou a hipermetilação podem alterar as marcas epigenéticas causando anomalia na função celular. **Palavras-chave:** Metilação do DNA, Epigenética e Expressão genética.

ABSTRACT

As advances in genetic research have been found that living organisms undergo phenotypic changes without changes in genotype. This phenomenon became known as epigenetic marks or changes. The main epigenetic mechanisms are DNA methylation and histone modifications. DNA methylation is a physical-chemical process that has a gene regulatory function that promotes the silencing of certain genes and activates others. This change directly interferes with the transcription and translation process of proteins from the information contained in the DNA. Epigenetic marks are of essential importance in the correct programming of gene expression. Small flaws or aberrant changes in epigenetic marks can cause reversible or chronic pathologies. Hypomethylation or hypermethylation can alter epigenetic marks causing an abnormality in cell function.

Keywords: DNA Methylation, Epigenetics and Gene Expression.

1. INTRODUÇÃO:

O DNA é uma macromolécula formada por uma sequência de nucleotídeos, sua estrutura foi desvendada em 1953, a estrutura do DNA é uma dupla hélice com fitas antiparalelas enroladas uma sobre a outra. Com isso, as moléculas de DNA de cada indivíduo de uma espécie constituem o genótipo dessa espécie (BARBOSA, SANTOS, et al., 2015). Ao longo da vida de um organismo, a transcrição do DNA e a tradução do mRNA são processos seletivos muitas vezes determinados por condições externas. A supressão da transcrição de um gene decorrente da metilação de histonas e/ou de nucleotídeos do DNA e o impedimento da tradução do mRNA são mecanismos universais entre os eucariotos, denominado silenciamento epigenético (VASCONCELOS e FIGUEIREDO., 2019)

Alterações epigenéticas são processos que induzem mudanças na expressão do gene e que são herdadas sem alterar a sequência das bases nitrogenadas do DNA (ácido desoxirribonucleico). A Epigenética constitui, portanto, uma área de conhecimento que tem os objetivos de investigar e responder questões sobre como modificações químicas (por exemplo, metilação) nos nucleotídeos e histonas do DNA que constitui os genes (NORO e GON., 2015).

Na metilação do DNA envolve modificações das ligações covalentes dos nucleotídeos e histonas que alteram a estrutura da cromatina do loci homólogo ao RNA-alvo afetando a expressão dos genes de modo reversível ou permanente. Quando essas mudanças no padrão da expressão gênica são estáveis, elas passam a ser transmitidas às gerações seguintes, e uma vez que não alteram a sequência do DNA, representam

um exemplo de mecanismo epigenético, o qual constitui uma adaptação dos organismos às variações das condições ambientais ou internas das células. Entre os fatores internos e externos que desencadeiam esse processo celular, podemos destacar o material genético viral, transgenes, elementos transponíveis (transposons) e microRNAs (VASCONCELOS e FIGUEIREDO., 2019).

1.1 DESCOBERTA

Em 1975, foi proposto o primeiro mecanismo epigenético, a metilação do DNA que ocorria na inativação de um dos cromossomos X no sexo feminino, influenciando a expressão gênica e que possuía um padrão herdável (VASCONCELOS e FIGUEIREDO., 2019). Esse mecanismo explica, em partes, as mudanças nos padrões de expressão gênica e a diferenciação celular ao longo do desenvolvimento. (ANELLI., 2011)

A metilação consiste em uma modificação covalente do DNA na qual um grupamento metil (CH₃) é transferido da S-adenosilmetionina para o carbono 5 de uma citosina (5-Mec) que geralmente precede a uma guanina (dinucleotídeo CpG), pela ação de uma família de enzimas que recebe o nome de DNA-metil-transferase (DNMTs). As DNA metiltransferases estão divididas em duas classes de representantes: aquelas envolvidas na metilação de fitas hemimetiladas do DNA (fitas de DNA em processo de replicação), conhecidas como metilases de manutenção como a DNMT1; e outro grupo, responsável pela maioria dos processos de metilação “de novo”, que ocorre em sítios

com nenhum tipo de indicação de metilação, ou seja, sem a presença de metilação prévia, como as DNMT2, DNMT3A e DNMT3B. (OLIVEIRA, PLANELLO, et al., 2010)

A manutenção feita pela enzima DNMT1 é importante, uma vez que a desmetilação do DNA é necessária para ativar genes específicos ou apagar a marca epigenética durante o desenvolvimento ou em respostas a perturbações ambientais. A desmetilação ainda pode ser passiva quando não há envolvimento de desmetilases e ocorre quando a manutenção pelas metiltransferases é inativa durante o ciclo celular. Assim, o nível e o padrão de 5-Mec são determinados por ambos os processos de metilação e desmetilação, e as enzimas envolvidas nesses processos devem estar altamente reguladas (OLIVEIRA, PLANELLO, et al., 2010)

1.2 FUNÇÃO E IMPORTÂNCIA

A metilação do DNA ocorre quase exclusivamente em dinucleotídeos CpG de células diferenciadas e são de extrema importância para a regulação da expressão gênica e no silenciamento de elementos repetitivos no genoma, e entre outros processos. Os dinucleotídeos CpG aparecem esparsos pelos genomas eucariotos ou agrupados em regiões definidas como ilhas CpG. A literatura nos mostra que a maioria dos dinucleotídeos CpG esparsos está metilada, ao contrário das ilhas CpG que estão desmetiladas, essas ilhas são frequentes em regiões promotoras de certos genes, incluindo genes constitutivos ou seja, que são constantemente expressos independente da condição ou estresse celular.

Por definindo: “ilhas CpG” são regiões do DNA maior do que 200 pares de bases, contendo aproximadamente 50% de bases c e G e com uma presença esperada de aproximadamente 60% de dinucleotídeos cpG (OLIVEIRA, PLANELLO, et al., 2010).

A metilação do DNA controla várias funções do genoma, sendo essencial durante a morfogênese para que ocorra desenvolvimento normal. Entre essas funções, podem ser citados: recombinação durante a meiose, controle da replicação, controle de DNAs que se inserem no genoma humano (ex.: DNA viral), estabilização e manutenção da expressão gênica, regulação da diferenciação celular e inativação do cromossomo X. Entretanto, a aberração no padrão de metilação no promotor de um gene pode levar à perda de função desse gene e ser muito mais frequente do que a mutação genética (OLIVEIRA, PLANELLO, et al., 2010).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A primeira sugestão de que a metilação do DNA poderia ter um papel biológico importante, fornecendo uma modificação química no DNA, foi publicado em 1969 por Griffith e Mahler (PEREIRA, 2010). Em 1975 Riggs, Holliday e Pugh publicaram artigos que sugeriam um modelo molecular para a ativação da carga genética, englobando também a transmissão hereditária da atividade e inatividade de determinados genes (FREITAS-SILVA e ORTEGA, 2014). Os autores também mencionam que a metilação da molécula de DNA poderia ter fortes efeitos na expressão genética, e as alterações no padrão desmetilação do DNA poderiam explicar como genes estão “ligados” ou “desligados” em diferentes tipos celulares e como o sistema “liga-desliga” dos genes ocorre durante o desenvolvimento do organismo, ainda em 1975 SAGER e KITCHIN concluíram outro estudo sobre metilação de DNA, onde se propôs que, enzimas em organismos eucariotos digerem DNA não modificado. Eles exploraram a possibilidade de muitos exemplos de eliminação cromossômica ou silenciamento de genes ocorrerem por esse mecanismo (PEREIRA, 2010).

Em 1987 Holliday revisa o uso do termo “epigenética” por Waddington e o utiliza para caracterizar fenômenos nos quais uma alteração na metilação do DNA acarreta na ativação da carga genética, discutindo sua importância para o entendimento de fenômenos como o câncer e o envelhecimento (FREITAS-SILVA e ORTEGA, 2014). Esta publicação foi importante para o início do uso da epigenética a qual explodiu na década de 90, nesse período o imprinting genômico foi descoberto e novas definições de epigenética foram necessárias. Muito progresso foi feito nas duas últimas décadas relacionando-se a metilação do DNA e da expressão genética numa variedade de

contextos biológicos e de estudo experimental da epigenética. Dessa maneira, podemos definir epigenética como sendo o estudo das modificações do DNA e das histonas (cromatina) que são herdáveis e não alteram a sequência de bases do DNA. Atualmente as pesquisas envolvendo metilação de DNA têm focado o estudo de genes relacionados ao desenvolvimento do câncer. Contudo é crescente o interesse por estudos envolvendo doenças inflamatórias e ultimamente o fator envelhecimento tem sido investigado (PEREIRA, 2010)

3. DESENVOLVIMENTO

2.1 EXPRESSÃO GENÉTICA

A expressão de um gene engloba uma série de passos incluindo a transcrição do mRNA. O DNA é capaz de se replicar ou seja, uma molécula de DNA pode originar outra em um processo semiconservativo, o que garante a passagem da informação genética para a geração seguinte. Além disso, a molécula de DNA é transcrita em uma molécula de fita simples, o RNA mensageiro, que será, então, traduzido em uma proteína. Nesse sentido, a informação contida no DNA será expressa na proteína, que irá exercer seu papel funcional ou estrutural na célula, garantindo a manutenção dos processos vitais e desenvolvimento dos organismos (ANELLI., 2011)

A metilação de DNA participa da transcrição gênica, processo em que a sequência de DNA de um gene é copiada (transcrita) em uma molécula de RNA, mais de 60% do genoma é transcrito em RNAs que não são traduzidos em proteínas, que podem regular a expressão gênica por meio de uma variedade de mecanismos como por exemplo os micro-RNAs e os RNAs não codificantes longos (lncRNAs) (KUMAR, ABBAS e C., 2016). A metilação tem seu papel evidenciado na regulação da expressão gênica por inúmeros trabalhos. Muitos dos mecanismos envolvidos com o estabelecimento e manutenção da metilação em sítios específicos do DNA ainda são desconhecidos, porém é certa a influência que essa modificação epigenética desempenha na organização da cromatina, levando à repressão de inúmeros genes e elementos transponíveis. A metilação do DNA é capaz de prevenir a reativação de genes silenciados, mesmo quando os marcadores repressivos de histona foram revertidos. O mecanismo mais simples de como a metilação do DNA pode atuar no controle da expressão gênica é por meio do bloqueio do sítio promotor ao acesso de fatores de transcrição, havendo silenciamento do alelo metilado, ou seja, a metilação do DNA interfere diretamente na sequência de ligação de fatores (OLIVEIRA., 2012).

Um exemplo clássico desse mecanismo de regulação ocorre com a proteína CTCF (fator de ligação CCCTC), um fator de transcrição com domínios dedos-de-zinco. A metilação em regiões promotoras alvo dessa proteína previne a ligação e ativação de toda uma cascata de transcrição, levando a inativação do gene específico (OLIVEIRA., 2012).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Revisar a literatura científica e específica acerca da importância genética e na replicação celular do processo de metilação do DNA.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Examinar a literatura específica acerca do tema metilação do DNA
- Avaliar artigos em língua portuguesa que constem nessas literaturas
- Caracterizar o processo de replicação de célula com ênfase em metilação do DNA

4. METODOLOGIA

Para obtenção de robustos resultados foram revistos artigos científicos e livros importantes presentes na literatura específica. Para tanto as bases de dados Pubmed, Scielo e Web of Science foram utilizadas, entre o período de Março e Junho de 2021. Foram pesquisadas, em todas as plataformas citadas as seguintes palavras chaves: Metilação do DNA, Metilação e câncer, replica do DNA e Expressão fenotípica. Foram excluídos os artigos anteriores ao ano de 2010 e em língua diferente da portuguesa.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados aqui apresentados mostram que a metilação do DNA é indispensável para as funções do genoma, e está relacionada com processos de regulação gênica, estabilidade cromossômica e imprinting parental.

A metilação do DNA silencia a expressão de um determinado gene. Quando certa sequência nucleotídica encontra-se hipermetilada, isto é, com muitos grupos metil presos nas citosinas no carbono 5, ocorre o silenciamento dessa sequência de genes; mas quando há hipometilação, haverá expressão desse gene.

A compreensão dos mecanismos envolvidos no silenciamento e na ativação dos genes é de extrema importância, pois está diretamente relacionada com processos fisiológicos normais e patológicos por corresponder a um conjunto de regulação gênica, com mecanismos complexos, esse entendimento auxilia na identificação de falhas no epigenoma, e conseqüentemente, possibilitar tratamento adequado em conformidade com a especificidade patológica do ser humano.

6. REFERÊNCIAS.

- ANELLI., V. Mecanismos Epigenéticos. **Casa da Ciência 2011 - Hemocentro de Ribeirão Preto FMRP-USP**, 2011. Disponível em: <<http://ead.hemocentro.fmrp.usp.br/joomla/index.php/noticias/adotepauta/669-mecanismos-epigeneticos>>. Acesso em: 01 mar. 2021.
- BARBOSA, J. V. et al. Onde fica o ácido desoxirribonucleico (DNA)? **google academico**, 2015. Disponível em: <<http://www.abrapecnet.org.br/enpec/x-enpec/anais2015/resumos/R0964-1.PDF>>. Acesso em: 05 mar. 2021.
- COSTA, E. D. B. O.; PACHECO., C. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações. **Biológicas e da Saúde, Londrina**, 2013. Disponível em: <<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjWyqKhp5DvAhXBCtQKHWqZDwkQFjAlegQIIBAD&url=http%3A%2F%2Fwww.uel.br%2Frevistas%2Fuef%2Findex.php%2Fseminabio%2Farticle%2FviewFile%2F5142%2F13877&usg=AOvVaw2yt9e8u-ldku>>. Acesso em: 01 mar. 2021.
- FREITAS-SILVA, L. R.; ORTEGA, F. J. G. A epigenética como nova hipótese etiológicano campo psiquiátrico contemporâneo. **Scielo.com**, 2014. Disponível em: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwih3bWJn43wAhUXppUCHVN_CQgQFjANegQIERAD&url=https%3A%2F%2Fwww.scielo.br%2Fpdf%2Fphysis%2Fv24n3%2F0103-7331-physis-24-03-00765.pdf&usg=AOvVaw06_t-yCWziTAihe5mWVCRS>. Acesso em: 18 abr. 2021.
- KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; C., A. J. **Robbins & Cotran Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 9. ed. [S.l.]: Elsevier Editora Ltda, 2016.

NORO, G.; GON., M. C. C. Epigenética, Cuidados Maternais e Vulnerabilidade ao Estresse: Conceitos Básicos e Aplicabilidade. **Scielo**, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-79722015000400023>.

Acesso em: 01 mar. 2021.

OLIVEIRA, N. F. P. D. et al. Metilação de DNA e Câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 54, n. 6, p. 493-499, set. 2010.

OLIVEIRA., J. C. D. Epigenética e doenças humanas. **researchgate.net**, 2012.

Disponível em:

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi4htCF8bLvAhWCHbkGHaaODFYQFjACegQIFBAD&url=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Fpublication%2F277051304_Epigenetica_e_doencas_humanas&usg=AOvVaw1SNBJps_jW5sb5T3wkiBUv>. Acesso em: 13 mar. 2021.

PEREIRA, E. P. METILAÇÃO DO DNA E METALOPROTEASES DA MATRIZ. **Google School**, 2010. Disponível em:

<<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjBqLmKu43wAhVxrpUCHRKtD98QFjABegQIAhAD&url=https%3A%2F%2Facervodigital.ufpr.br%2Fbitstream%2Fhandle%2F1884%2F50996%2FR%2520-%2520E%2520-%2520ELAINE%2520PROVENSIP%2520P>>. Acesso em: 18 abr. 2021.

VASCONCELOS, M. J. V. D.; FIGUEIREDO., J. E. F. Regulação Gênica por Metilação de DNA Dependente de RNA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Milho e Sorgo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2019. Disponível

em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1117395/regulacao-genica-por-metilacao-de-dna-dependente-de-rna-rddm---rna-dependent-dna-methylation>>. Acesso em: 01 mar. 2021.

FREITAS-SILVA, L. R.; ORTEGA, F. J. G. A epigenética como nova hipótese etiológica no campo psiquiátrico contemporâneo. Scielo.com, 2014. Disponível em: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwih3bWJn43wAhUXppUCHVN_CQgQFjANegQIERAD&url=https%3A%2F%2Fwww.scielo.br%2Fpdf%2Fphysis%2Fv24n3%2F0103-7331-physis-24-03-00765.pdf&usg=AOvVaw06_t-yCWziTAihe5mWVCRS>. Acesso em: 18 abr. 2021.

PEREIRA, E. P. METILAÇÃO DO DNA E METALOPROTEASES DA MATRIZ. **Google School**, 2010. Disponível em: <<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjBqLmKu43wAhVxrpUCHRktD98QFjABegQIAhAD&url=https%3A%2F%2Facervodigital.ufpr.br%2Fbitstream%2Fhandle%2F1884%2F50996%2FR%2520-%2520E%2520-%2520ELAINE%2520PROVENSIP>>. Acesso em: 18 abr. 2021.