

HIPERMETILAÇÃO E CÂNCER

Epigenética é qualquer mudança da expressão de um gene sem que ocorra alteração estrutural na sequência de DNA.

A metilação é o principal fenômeno epigenético pelo qual um gene é silenciado. Ele se dá pela adição covalente de um grupo *metila*, que é transferido de um doador (*S-adenosilmetionina*) à citosina presente na estrutura do DNA. Essa reação é catalisada pela *DNA-metiltransferase*.

Na maioria dos mamíferos (incluindo o ser humano), dentre todas as bases que formam o DNA somente a citosina pode sofrer metilação. Locais particularmente susceptíveis são os **dinucleotídeos CpG**, bases *citossina* e *guanina* adjacentes. A maioria desses dinucleotídeos então em pequenas regiões chamadas de **ilhas CpG**, que em células normais estão protegidas da adição de metila. Essas ilhas CpG são encontradas em todos os genes em regiões ativas, os **promotores**, que são sequências regulatórias presentes na extremidade 5' do DNA logo antes do início do gene que será transcrito. Se ocorrer metilação, o promotor é silenciado, interrompendo a transcrição, e conseqüentemente, a expressão gênica.

Além da metilação do DNA, a modificação da estrutura das histonas (proteínas associadas à molécula de DNA e que determinam a intensidade da compactação da cromatina) também é considerada importante no silenciamento de genes. Uma vez adicionado o radical metila na citosina, ocorre a **deacetilação das histonas**, tornando a cromatina mais condensada e, portanto inacessível aos processos de transcrição.

Vale lembrar que o silenciamento de genes através de metilação nem sempre acarreta problemas. Processos como a **Inativação do X** e o **Imprinting Genômico** ocorrem pela adição de metila que inativa determinados genes, sendo esses eventos **normais e indispensáveis** à vida humana. Portanto, a metilação é um importante meio de **regulação da expressão gênica**. Outra função normal desse tipo de alteração epigenética é a **proteção do genoma** contra invasão de sequências de DNA vindas de fora do organismo, como DNA viral, que é inativado por adição de metila.

Por outro lado, existem algumas situações em que a metilação contribui para processos patogênicos, dentre eles o mais amplamente estudado é o **câncer**. Hoje, considera-se que a hipermetilação do DNA é um dos principais eventos responsáveis por iniciar a maioria das formações tumorais. São várias as maneiras como a epigenética age na carcinogênese:

- **Metilação exagerada nas ilhas CpG:** a hipermetilação nas regiões promotoras, como já foi mencionado, diminui a expressão do gene afetado. Em muitos casos, essa região silenciada é um **Gene Supressor Tumoral**, que deixam de fazer a regulação negativa do ciclo celular, iniciando um processo neoplásico. O silenciamento devido à metilação excessiva das ilhas CpG do DNA, associada a uma configuração de cromatina fechada e a perda de acesso a fatores de transcrição tem sido visto como importante mecanismo molecular alternativo para a perda de função dos genes supressores tumorais, que é uma das principais classes de gene responsáveis pelo início dos processos neoplásicos. Um exemplo disso é a hipermetilação da região 5' do gene RB ocasionado um silenciamento transcricional e provocando, entre outros tumores, o Retinoblastoma. Ainda não está bem esclarecido o que leva ao aumento da metilação nas ilhas CpG de determinadas células. O que se observa é uma ocorrência aumentada de hipermetilação em células mais velhas ou que sofreram ação de fatores ambientais como a radiação, o fumo, o níquel, entre outros agentes químicos diversos.

- Pontos quentes de mutação: quando a citosina é metilada ela se transforma na 5-metilcitosina, que é muito instável e tem tendência a sofrer **desaminação espontânea**. O produto da desaminação será uma *timina* que tomará o lugar que era ocupado pela citosina, ou seja, acontecerá uma **mutação pontual** (troca de um par de bases), onde havia o par C-G haverá o par T-A. Esse tipo de mutação pode alterar a função dos produtos dos oncogenes ou dos genes supressores de tumor.
- Instabilidade cromossômica em regiões hipometiladas: a importância da hipermetilação na carcinogênese já é amplamente aceita, todavia a contribuição de áreas de citosina pouco metiladas na formação de tumores ainda está sendo melhor investigada. Acredita-se que a **hipometilação** seja fonte de **instabilidade cromossômica**, modificando a expressão dos proto-oncogenes, transformando-os em oncogenes.

Diante da importância da metilação na formação do câncer, torna-se essencial a sua **detecção precoce**, bem como a sua **mensuração**. Alguns métodos já foram desenvolvidos:

- Enzimas sensíveis à metilação: atuam quebrando o DNA nos locais em que há metilação. Esses fragmentos são submetidos a um gel de eletroforese e então se torna possível a identificação do gene silenciado. Esse método tem uma série de desvantagens, entre elas a necessidade de muito tempo para sua realização e a grande quantidade de amostra que deve ser utilizada.
- PCR: é um método mais sensível que detecta áreas não metiladas do DNA. Como esse tipo de reação amplifica a amostra através do uso de primers, o teste requer quantidade bem menor de amostra de DNA. Por outro lado, existe uma limitação desse método, pois somente genes já conhecidos podem ser avaliados, o que significa que poucas ilhas CpG podem ser investigadas atualmente.
- PCR – metilação específica: é um método mais recente que utiliza sódio dissulfito para converter toda a citosina não metilada no DNA em uracil. Como no DNA normal não existe uracil fica fácil a mensuração.

Uma vez que a metilação é um processo epigenético, tem o **potencial de ser revertido**. As drogas mais conhecidas são a 5-azacytidine (5-aza-CR) e a 5-aza-2'-deoxycytidine (5-aza-CdR). Ambas são potentes inibidoras da metilação do DNA. Seu modo de ação ainda não foi bem elucidado, mas acredita-se que seja pela incorporação de análogos da citosina no DNA e no RNA, mesmo mecanismo que as torna drogas perigosas, se mal administradas. Elas podem ter **efeitos citotóxicos** e **mutagênicos** se utilizadas em doses elevadas. Importante lembrar que esses agentes químicos não têm ação específica, ou seja, acabam desmetilando genes que deveriam permanecer silenciados, o que provoca consequências importantes no indivíduo. Uma das grandes expectativas do futuro é a elaboração de medicamentos mais seletivos, capazes de reverter somente o processo de metilação responsável por doenças.

Bibliografia recomendada:

1. Thompson & Thompson. “*Genética Médica*”. 6^a. ed. 2002
2. De Vita. “*Principles e Practice of Oncology*”. 5^a. ed 1997
3. Antequera F, Bird A. “*Number of CpG islands and genes in human and mouse*”. 1993
4. Gerda E, Jones AP. “*Epigenetica in human disease and prospects for epigenetic therapy*”. Maio/2004.
5. Jones AP, Baylin SB. “*The fundamental role of epigenetics event in cancer.*” Junho/2002
6. Pufulete M. “*Methyl groups at play.*” 2001