

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

METILAÇÃO DE HISTONAS E CÂNCER DE MAMA: DO MECANISMO À SUA UTILIZAÇÃO NA PRÁTICA CLÍNICA.

Juliana Carvalho Passos, Júlia Toneto Neves, Caio Effigen Bortolini, Davi Bonella Lopes, Brunella Curto Cristianes Lacerda, Adriana Madeira Álvares da Silva, Suzanny Oliveira Mendes.

Universidade Federal do Espírito Santo, Avenida Marechal Campos, 1468, Maruípe, 29047-105 - Vitória-ES, Brasil, juliana.c.passos@edu.ufes.br, juliatoneto16@gmail.com, caioebortolini@gmail.com, davibonella@gmail.com, brunellacclacerda@gmail.com, adriana.biomol@gmail.com, suzannymendes@gmail.com.

Resumo

O câncer de mama hoje representa a principal causa de óbito em mulheres e, por esse motivo, grandes esforços são investidos para a compreensão de seu desenvolvimento. Por muito tempo acreditou-se que sua principal causa estava associada a alterações genéticas, porém, hoje entende-se que há também influências epigenéticas no processo de tumorigênese. Uma dessas influências se dá através da metilação de histonas a qual leva a alterações na expressão gênica culminando na formação, progressão e metástase do câncer. Esta revisão de literatura possui como objetivo entender a influência da epigenética no processo de carcinogênese de mama e sua possível utilização na clínica médica. Para isso foram realizadas buscas na plataforma *PubMed*, sendo selecionados 11 artigos para compô-la. A literatura demonstrou uma relação entre a metilação de histonas e o processo de tumorigênese que ocorre na mama. Ademais, também foram indicadas utilizações destas como biomarcador para realizar o diagnóstico do câncer de mama, prever seu prognóstico e como alvo terapêutico.

Palavras-chave: Câncer de mama. Epigenética. Histonas. Metilação.

Área do Conhecimento: Biologia Molecular.

Introdução

O câncer de mama foi identificado como o principal câncer que evolui para o óbito em todo mundo, sendo, apenas em 2020, registradas mais de 685.000 mortes relacionadas a ele (KARAMI FATH et al., 2022). Tradicionalmente o câncer de mama é classificado como uma doença genética, porém, com os recentes estudos foi verificado que o seu processo de tumorigênese também está associado a alterações epigenéticas. Ainda de acordo com os autores, um tipo de alteração frequentemente relacionado ao desenvolvimento do câncer de mama são as modificações de histonas, incluindo a metilação (KARAMI FATH et al., 2022).

Histonas são proteínas que, juntamente ao DNA, compõem a cromatina organizada no interior do núcleo em unidades chamadas nucleossomas. Estes nucleossomas são formados por pares de histonas H2A, H2B, H3 e H4 unidas e enoveladas a 147 pares de bases de DNA, sendo cada nucleossoma ligado entre si pela histona ligante H1 (RAMAIAH; TANGUTUR; MANYAM, 2021). Estas histonas possuem caudas onde pode ocorrer modificações pós-traducionais, por exemplo metilação, que podem influenciar a conformação da cromatina e consequentemente a expressão gênica, que ocorrem de maneira fisiológica (SARVARI et al., 2022).

No núcleo celular a cromatina pode estar em conformações mais condensadas chamadas heterocromatina, com genes menos expressos, ou em conformações menos condensadas, chamadas eucromatina, em que os genes ali presentes apresentam maior probabilidade de serem expressos. Para que ocorra a expressão de genes presentes em regiões de maior grau de condensação, é necessário que a cromatina seja remodelada. Desta forma, a transcrição desses genes pode ser regulada epigeneticamente através de modificações de histonas, uma vez que estas interferem na conformação da cromatina (TRAGER et al., 2021).

Ainda que a metilação de histonas possa ocorrer de forma fisiológica, a desregulação deste processo pode promover alteração na expressão de importantes genes relacionados ao controle do ciclo celular, levando a proliferação celular anormal, além de outros processos associados à tumorigênese (LI et al., 2021). Desta forma, estudar os mecanismos pelos quais ocorrem a influência

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

da metilação de histonas no câncer de mama é necessário para que seja possível entender sua relação com o processo de tumorigênese, bem como elucidar possíveis utilizações para essas modificações como biomarcadores, além de avaliação para diagnóstico, prognóstico e tratamento.

Assim, o presente trabalho objetiva realizar uma revisão da literatura mais atualizada acerca das modificações decorrentes da metilação de histonas e sua relação com o câncer de mama e seu processo de tumorigênese. Além disso, também trata da sua aplicação na prática clínica como biomarcador diagnóstico e prognóstico, bem como possíveis usos terapêuticos.

Metodologia

O presente trabalho consiste em uma revisão de literatura realizada através da seleção de artigos científicos na base de dados *PubMed*. Para a pesquisa foram utilizadas as seguintes palavras chave: “breast cancer” and “epigenetic”, “breast cancer” and “epigenetic modifications”, “histone modification”. A partir dos resultados foram pré-selecionados artigos publicados entre os anos de 2018 à 2023. Por fim, utilizou-se como critério de inclusão trabalhos que abordassem especificamente alterações epigenéticas no câncer de mama, em especial aquelas que ocorrem em histonas, seja seu mecanismo ou utilização clínica para diagnóstico, prognóstico ou tratamento. Aqueles trabalhos cuja data de publicação era anterior a delimitação ou que não se correlacionam com o tema foram retirados.

Resultados

A partir da pesquisa foram obtidos 11 trabalhos científicos, descritos no Quadro 1, que serviram como base teórica para a elaboração desta revisão de literatura e que, portanto, abordavam os temas epigenética, câncer de mama e modificações em histonas.

Quadro 1 - Trabalhos científicos utilizados na presente revisão bibliográfica.

Artigo	Temática
HOU, Y. et al. PHF20L1 as a H3K27me2 reader coordinates with transcriptional repressors to promote breast tumorigenesis. Science Advances , v. 6, n. 16, p. 356, 1 abr. 2020.	Explica a atuação da proteína PHF20L1, uma proteína de reconhecimento de H3K27me2, como oncogene em situações de hipóxia ao reprimir a transcrição de genes supressores de tumor, como o BRCA1 levando à progressão tumoral.
KAMIŃSKA, K. et al. Prognostic and Predictive Epigenetic Biomarkers in Oncology. Molecular Diagnosis & Therapy , v. 23, n. 1, p. 83–95, 6 dez. 2018.	Correlaciona o fato das metilações em histonas serem reversíveis à possibilidade de usá-las como biomarcadores e possível tratamento. Define a epigenética como elemento fundamental no futuro como diagnóstico e tratamento do câncer.
KARAMI FATH, M. et al. The role of epigenetic modifications in drug resistance and treatment of breast cancer. Cellular & Molecular Biology Letters , v. 27, n. 1, 28 jun. 2022.	Indica a utilização de marcadores de metilação de histona para agrupar o câncer de mama em subtipos. Também correlaciona as modificações de histonas à progressão e metástase do câncer de mama. Ademais, exemplifica o uso de epidrogas com sucesso terapêutico.
KSENIA SKVORTSOVA et al. DNA Hypermethylation Encroachment at CpG Island Borders in Cancer Is Predisposed by H3K4 Monomethylation Patterns. v. 35, n. 2, p. 297-314.e8, 1 fev. 2019.	Explica como as ilhas CpG de regiões promotoras são hipermetiladas no câncer de mama em consequência à metilação ativa da histona H3K4 levando à supressão gênica.
LI, W. et al. Targeting Histone Modifications in Breast Cancer: A Precise Weapon on the Way. Frontiers in Cell and Developmental Biology , v. 9, 14 set. 2021.	Explica os papéis das modificações das histonas na estabilidade genômica, transcrição e câncer de mama e como a metilação de histonas podem estar ligadas à tumorigênese e progressão do câncer de mama

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

	quando anômalas.
RAMAIAH, M. J.; TANGUTUR, A. D.; MANYAM, R. R. Epigenetic modulation and understanding of HDAC inhibitors in cancer therapy. Life Sciences , v. 277, p. 119504, 15 jul. 2021.	Relaciona alterações em proteínas como HDACs, HMTs e DNMTs, que regulam a conformação da cromatina, à consequências que promovem a tumorigênese como alterações no ciclo celular e apoptose.
SARVARI, P. et al. Advances of Epigenetic Biomarkers and Epigenome Editing for Early Diagnosis in Breast Cancer. International Journal of Molecular Sciences , v. 23, n. 17, p. 9521, 1 jan. 2022.	Explicita o papel da metilação de histona na tumorigênese do câncer de mama ao relacionar estas à expressão defeituosa de proto-oncogenes e genes supressores de tumor. Apresenta, também, a utilização dessas como alvo terapêuticos e como biomarcadores para diagnóstico e prognóstico.
SHUKLA, S. et al. Epigenetics of Breast Cancer: Clinical Status of Epi-drugs and Phytochemicals. Advances in Experimental Medicine and Biology , p. 293–310, 2019.	Destaca o papel de alterações epigenéticas, como a metilação de histona, na progressão e explora moduladores epigenéticos que atuam na metilação como estratégias potenciais de prevenção e tratamento.
SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2020. CA: a cancer journal for clinicians , v. 70, n. 1, p. 7–30, 8 jan. 2020.	Apresenta as estatísticas sobre diversos tipos de câncer bem como a urgência para serem estabelecidos possíveis tratamentos.
TRAGER, M. H. et al. Control of Breast Cancer Pathogenesis by Histone Methylation and the Hairless Histone Demethylase. Endocrinology , v. 162, n. 8, 29 abr. 2021.	Apresenta a correlação entre o papel regulador das enzimas modificadoras de histonas e a transcrição gênica. Explicita também a relação entre mutações do gene <i>hairless</i> (HR) e a consequente perda de metilação da histona H3K9 com a tumorigênese do câncer de mama.
ZHUANG, J. et al. Perspectives on the Role of Histone Modification in Breast Cancer Progression and the Advanced Technological Tools to Study Epigenetic Determinants of Metastasis. Frontiers in Genetics , v. 11, 29 out. 2020.	Explicita o papel de mudanças epigenéticas na transição de fenótipos metastáticos, abordando os impulsionadores epigenéticos que desregulam genes relacionados ao crescimento e metástase do câncer de mama.

Fonte: Autores, 2023.

Discussão

O câncer de mama é resultante de múltiplos fatores, dentre eles fatores genéticos e epigenéticos que atuam sobre genes que regulam o ciclo celular e a apoptose. Há estudos hoje que evidenciam as modificações epigenéticas como a principal causa da iniciação e progressão do câncer de mama (SHUKLA et al., 2019; ZHUANG et al., 2020). Isso porque essas alterações podem afetar a expressão de proto-oncogenes e de genes supressores de tumor que agem durante essas fases da tumorigênese (SARVARI et al., 2022).

Esse tipo de câncer pode ser subdividido em quatro subtipos e eles diferem quanto a sua origem, comportamento e prognóstico, o que corrobora para a importância de se conhecer a epigenética para o desenvolvimento de terapias direcionadas e específicas, aumentando assim a sobrevida e a qualidade de vida do paciente (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2020). Esse agrupamento em tipos de câncer pode ser realizado considerando-se marcadores de metilação de histona. Isso porque, existem marcadores de metilação de histonas que variam entre células normais e células de câncer de mama. Um exemplo disso são os marcadores H3K4me3 e H3K27me3 que podem ser encontrados em diversos subtipos (KARAMI FATH et al., 2022).

As modificações pós-traducionais de histona são relacionadas à tumorigênese, progressão e metástase do câncer de mama. Uma destas relações tem sido observada através da associação entre

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

a diminuição significativa da metilação pós-traducional de H3K9 e a transformação neoplásica em casos de câncer de mama (KARAMI FATH et al., 2022). Além disso, modificações de genes também influenciam em modificações de histonas e no desenvolvimento do câncer de mama. Um exemplo disso é o gene *hairless* (HR) que atua como H3 lisina 9 demetilase e mutações nele estão associadas ao câncer de mama (TRAGER et al., 2021). Isso porque o gene HR possui um domínio JmjC que catalisa a desmetilação de histonas por meio de reações oxidativas. Quando ocorrem mutações em HR, há perda da função sobre H3K9, que deixa de ser desmetilada, e, portanto, não atua como um gene supressor de tumor. Ainda de acordo com Trager et al (2021), esse papel do gene HR pode ser demonstrado através de pesquisas que apresentaram dados que, de 816 casos de câncer, 49 apresentavam alterações, deleções ou mutações, no gene HR. Dessa forma, demonstra-se que a supressão do gene HR pode estar fortemente relacionada à tumorigênese do câncer de mama pela desregulação da metilação da histona.

As KMTs, que são metiltransferases de lisina, atuam sobre as modificações de histona de modo a ativar ou inativar oncogenes e genes supressores de tumores, podendo acelerar ou não a progressão do câncer de mama. Um exemplo disso é demonstrado através do processo de metilação ativa da histona K3K4 realizado pela família KMT2 que leva à hipermetilação de regiões promotoras do DNA próximas a ilhas CpG, promovendo a tumorigênese (KSENIA SKVORTSOVA et al., 2019). Tal fato, no câncer de mama, promove a ativação gênica dependente de estrogênio do oncogene e, consequentemente, contribui para a proliferação e invasão de células tumorais (LI et al., 2021). Por outro lado, as KMTs também podem inibir a progressão tumoral ao realizar a metilação. Por exemplo, quando ocorre a metilação de histona H4K20 por KMT, há a repressão da transcrição, inibindo os processos relacionados à tumorigênese. No câncer de mama, a ausência de H4K20me3 é reduzida e indica um prognóstico ruim já que há o aumento da invasividade de células cancerígenas (WU et al., 2019).

Essas metilações em lisinas de histonas são lidas por proteínas leitoras de metililina que reconhecem modificações em histonas e recrutam complexos proteicos que modulam a transcrição de oncogenes e TSGs, promovendo ou suprimindo o câncer de mama (LI et al., 2021). De acordo com Hou et al (2020), isso pode ser visto através de PHF20L1 que possui um papel oncogênico em condições de hipóxia, suprimindo vias de inibição de supressores de tumores, como BRCA1, e, consequentemente, levando a proliferação e metastização das células de câncer de mama.

Além de explicar o mecanismo do desenvolvimento do câncer de mama, o estudo das modificações epigenéticas que ocorrem nas histonas também permite a identificação de biomarcadores que auxiliam no diagnóstico e prognóstico da doença, além do desenvolvimento de medicamentos que os têm como alvos (SARVARI et al., 2022). Ainda de acordo com os autores, a identificação de novos biomarcadores diagnósticos e prognósticos para o câncer é de suma importância em vista da dificuldade para o diagnóstico precoce por meio de outros métodos devido às limitações inerentes a eles, como o alto custo para sua execução e a dificuldade de detectar pequenos nódulos precocemente, além de pessoais, como a presença de mamas mais densas. No que tange à epigenética, a utilização de biomarcadores para o câncer de mama ocorre porque a metilação de histonas pode tanto ativar quanto silenciar cromatinas. Por exemplo, histonas como H3K4, H3K36 e H3K79 quando metiladas ativam a transcrição dos genes presentes na sequência de DNA em que estão relacionadas. Diferentemente, as histonas H3K9, H3K27 e H4K20 quando metiladas reduzem a possibilidade de transcrição (LI et al., 2021).

Além disso, a presença de metilações em histonas utilizadas como biomarcador também permite certa previsibilidade para o prognóstico de câncer de mama, como demonstrado em estudos que correlacionaram negativamente o grau do tumor à metilação de lisina (H3K4me2, H4K20me3) e de arginina (H4R3me2) após a avaliação de 880 pacientes (SARVARI et al., 2022). Por outro lado, também é importante citar que alguns marcadores indicam melhores prognósticos, a exemplo do H4R3me2 que estava presente em linfonodos com menor grau de acometimento e que é menos presente em tumores grandes e em câncer de mama triplo negativo e HE2-positivo (LI et al., 2021). Um importante biomarcador para o câncer de mama é o ER visto que, dentre os diferentes subtipos de câncer de mama, 75-85% são positivos para este receptor (SARVARI et al., 2022). Por fim, de acordo com os mesmos autores, é importante ressaltar que para as marcas epigenéticas serem consideradas biomarcadores confiáveis com alta sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo é necessário que sejam relacionados ao subtipo de câncer de mama, estágio da doença e progressão do tumor.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Diferentemente das alterações genéticas, as mudanças no epigenoma são reversíveis e isso possibilita o desenvolvimento de epidrogas (KAMIŃSKA et al., 2018). Entende-se que uma das razões da metilação de histonas ser um processo reversível é pela presença de enzimas das famílias de KDMs. Uma dessas enzimas é a LSD1 (KDM1A) (LI et al., 2021), que é um membro de vários co-repressores transcricionais e, no câncer de mama, pode atuar suprimindo a transcrição de genes relacionados a proliferação e mobilização de células cancerígenas (QIU et al., 2018; YANG et al., 2018; ZHENG et al., 2018).

Um exemplo da atuação das KDMs no câncer de mama é a desmetilação de H3K36 catalisadas por KDM2, que nesse tipo de câncer, é regulada positivamente e possui uma atuação dupla, influenciando na transcrição de RNA ribossômico, aumentando-a para suprimir a mitose acelerada da tumorigênese, porém, também pode inibir a transcrição quando, em situações de restrição de glicose, suprime a proliferação de células cancerígenas (LI et al., 2021).

Dentre as considerações feitas acerca de tratamentos, está a possibilidade de reativar a expressão de genes que sofreram silenciamento epigenético pela desregulação de reguladores epigenéticos e com isso reativar células cancerosas ao restaurar o fenótipo normal. Um dos meios para alcançar tal feito é o desenvolvimento de epidrogas para o tratamento de câncer de mama, e superação da resistência terapêutica, que visam a metilação e desmetilação de histonas já que essas modificações estão amplamente relacionadas à tumorigênese (KARAMI FATH et al., 2022).

Este tipo de terapia pode ser exemplificado pelas modificações do gene ESR1 o qual codifica ER α , um receptor de estrogênio essencial para as células tumorais crescerem e se desenvolverem e que, por isso, é alvo de terapias endócrinas. A hipermetilação de ESR1 resultou na redução de ER α em aproximadamente 20% dos pacientes que tiveram administração de tamoxifeno, indicando um possível sucesso terapêutico (KARAMI FATH et al., 2022). Além disso, a partir do conhecimento de inibidores dos leitores de metililisina há a possibilidade de serem desenvolvidas moléculas que inibiriam essa interação, porém, ainda não há testes para potenciais tratamentos para o câncer de mama que os utilizem (LI et al., 2021).

Por fim, é necessário destacar que também há a possibilidade de empregar os conhecimentos sobre modificações de histonas em terapias combinadas que associam epidrogas e imunoterapia (TRAGER et al., 2021) e apresentam eficácia aumentada com relação à resposta clínica e sobrevida livre de progressão e sobrevida global, por apresentarem atuação nas células cancerosas e imunológicas melhorando as respostas antitumorais (KARAMI FATH et al., 2022).

Conclusão

Em síntese, a presente revisão de literatura demonstrou que há uma forte relação entre as metilações de histona e o desenvolvimento do câncer. Além disso, também foi demonstrada uma possível utilidade clínica para o entendimento dessas modificações epigenéticas tanto no diagnóstico quanto no tratamento do câncer de mama. No que tange ao primeiro, há promissores estudos que indicam seu valor para delinear o diagnóstico e o prognóstico do câncer já que há biomarcadores que quando presentes estão associados a melhores ou piores desfechos. Já com relação ao tratamento, foi apontado que essas metilações de histonas podem ser utilizadas como alvos para epidrogas. Além disso, foram apontadas correlações positivas entre a associação de tratamentos epigenéticos à tratamentos tradicionais, como a imunoterapia.

Referências

- HOU, Y. et al. PHF20L1 as a H3K27me2 reader coordinates with transcriptional repressors to promote breast tumorigenesis. **Science Advances**, v. 6, n. 16, p. 356, 1 abr. 2020.
- KAMIŃSKA, K. et al. Prognostic and Predictive Epigenetic Biomarkers in Oncology. **Molecular Diagnosis & Therapy**, v. 23, n. 1, p. 83–95, 6 dez. 2018.
- KARAMI FATH, M. et al. The role of epigenetic modifications in drug resistance and treatment of breast cancer. **Cellular & Molecular Biology Letters**, v. 27, n. 1, 28 jun. 2022.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

KSENIA SKVORTSOVA et al. DNA Hypermethylation Encroachment at CpG Island Borders in Cancer Is Predisposed by H3K4 Monomethylation Patterns. v. 35, n. 2, p. 297-314.e8, 1 fev. 2019.

LI, W. et al. Targeting Histone Modifications in Breast Cancer: A Precise Weapon on the Way. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, 14 set. 2021.

RAMAIAH, M. J.; TANGUTUR, A. D.; MANYAM, R. R. Epigenetic modulation and understanding of HDAC inhibitors in cancer therapy. **Life Sciences**, v. 277, p. 119504, 15 jul. 2021.

SARVARI, P. et al. Advances of Epigenetic Biomarkers and Epigenome Editing for Early Diagnosis in Breast Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 17, p. 9521, 1 jan. 2022.

SHUKLA, S. et al. Epigenetics of Breast Cancer: Clinical Status of Epi-drugs and Phytochemicals. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, p. 293–310, 2019.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2020. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 70, n. 1, p. 7–30, 8 jan. 2020.

TRAGER, M. H. et al. Control of Breast Cancer Pathogenesis by Histone Methylation and the Hairless Histone Demethylase. **Endocrinology**, v. 162, n. 8, 29 abr. 2021.

ZHUANG, J. et al. Perspectives on the Role of Histone Modification in Breast Cancer Progression and the Advanced Technological Tools to Study Epigenetic Determinants of Metastasis. **Frontiers in Genetics**, v. 11, 29 out. 2020.