

A Epigenética em Respostas Transgeracionais aos Impactos Ambientais: Factos e Lacunas

ebook.ecog-obesity.eu/pt/biologia/a-epigenetica-em-respostas-transgeracionais-aos-impactos-ambientais-factos-e-lacunas



Claudine Junien

INRA

UMR1198 Biologie du Développement et Reproduction

F-78350 Jouy-en-Josas,

France

claudine.junien@jouy.inra.fr

Traduzido para Português no âmbito da iniciativa PerMundo (traduções gratuitas das páginas web e documentos para associações sem fins lucrativos). Projeto dirigido por Mondo Agit. Tradutora: Mariane Bastos Guimarães ; Revisora: Marta Cardoso

Resumo

Há cada vez mais interesse em mecanismos não-genéticos e não-culturais de transferência de uma memória da exposição parental a vários ambientes e que determinem a reação das gerações futuras ao seu ambiente durante as suas vidas. Contudo, existem ainda questões referentes à natureza, função e importância relativa das marcas e processos epigenéticos, RNA não codificantes, ou outros mecanismos, e a sua persistência através das gerações. Não foi construído um modelo que incorporasse os vários sistemas de transmissão, as suas naturezas, respectivos impactos e mecanismos, diretos ou indiretos, as suas interferências e janelas de sensibilidade em função do sexo dos pais e descendentes.

Revisitando as teorias de J.B. Lamarck à luz da epigenética

A nossa capacidade de responder a vários desafios e perigos da vida, e ao *stress* e risco de doenças, durante a infância e a fase adulta, depende da saúde e capital humano com o qual nascemos [1]. Estas observações estão subjacentes ao conceito de “origem do desenvolvimento da saúde e da doença” (DOHaD) [2]. A noção de que mecanismos não-genéticos e não-culturais são capazes de transmitir a memória de exposição às diversas condições ambientais às gerações futuras, condicionando as suas reações, levantou um interesse considerável e trouxe de volta à baila as propostas há muito criticadas de J.B. Lamarck (caixa)

Caixa

A escultura por trás da base mostra Jean-Baptiste Lamarck e sua filha, Aménaïde Cornélie. Ela mostra a inscrição: “*A posteridade vos admirará, ela vos vingará, meu pai*”.

Jean-Baptiste Pierre Antoine de Mont, Cavaleiro de Lamarck (1774-1829) era um zoólogo/biólogo e anatomista francês que fez uma grande contribuição à classificação das formas de vida através de suas quatro leis:

Primeira lei: A vida, através de suas próprias forças, tende a aumentar continuamente o volume de qualquer corpo que ela possui e a ampliar as dimensões de suas partes a um limite que ela própria define.

Segunda lei: A produção de um novo órgão no corpo de um animal resulta de uma nova necessidade que ocorre e continua a ser sentida e um novo movimento que precisa de nascer e se manter.

Terceira lei: O desenvolvimento dos órgãos e das suas forças de ação são constantemente consistentes com o uso destes órgãos.

Quarta lei: Tudo o que foi adquirido, rastreado ou alterado na organização dos indivíduos, durante as suas vidas, é conservado pela geração em causa e transmitido aos novos indivíduos produzidos por aqueles que passaram por estas mudanças.

Processos de transmissão não-genéticos são frequentemente descritos como Lamarquistas porque levantam a possibilidade de herdar características adquiridas por gerações precedentes. As características-chaves dos mecanismos Lamarquistas são: 1) um fator ambiental que causa “alterações transmissíveis” diretamente; 2) as mudanças induzidas têm como alvo um conjunto limitado de componentes de células com relevância funcional; 3) as mudanças proporcionam uma adaptação específica ao desafio inicial. Entretanto, a prova de conceito para um papel de processos epigenéticos na evolução Lamarquista permanece ténue ou fragmentada. A quarta lei, que foi formulada há dois séculos, pode parecer ir contra a

descoberta de que as marcas epigenéticas carregadas pelos gâmetas são extensivamente apagadas após a fertilização, assegurando o estado de totipotência que não deveria permitir a passagem de informação sobre as experiências dos pais ou ancestrais. Contudo, Lamarck começou pela noção de que uma mudança no meio ambiente provoca mudanças nas necessidades dos organismos que vivem naquele meio ambiente, provocando, por sua vez, mudanças nos seus comportamentos. Estas mudanças de comportamento levam a um uso maior ou menor dos órgãos em questão, resultando em mudanças no tamanho do órgão (aumento em tamanho ou desaparecimento) ao longo do tempo e das gerações.



As consequências dos fatores ambientais tais como dieta, *stress*, produtos químicos ou outras influências psicoafetivas, geográficas, políticas ou sócioeconômicas podem simultaneamente afetar pelo menos três gerações – a mãe e o pai (F0), os seus filhos (F1) e os seus netos (F2) – através de mudanças somáticas e/ou germinais na geração F1 (Figura 1)[1].

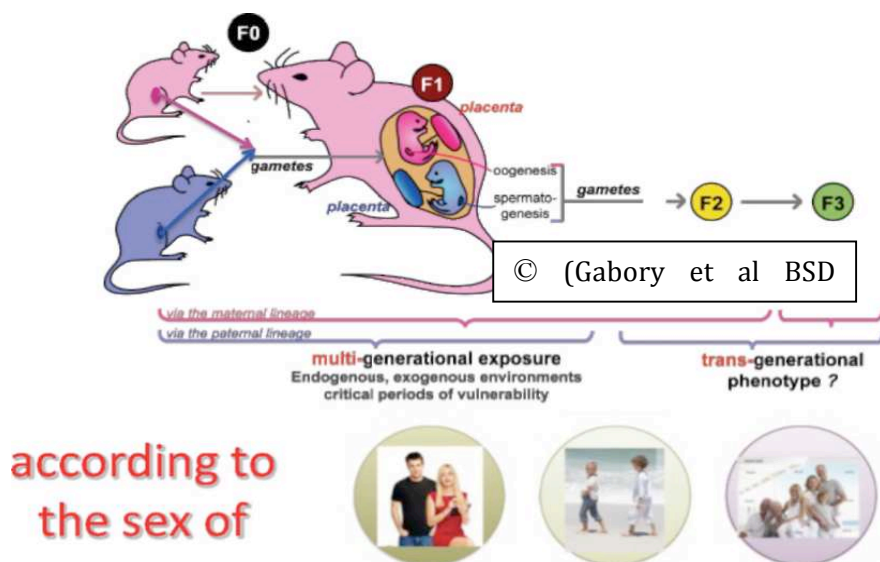


Figura 1. Transmissão específica de sexo da memória de exposição aos fatores ambientais para as gerações subsequentes. Fatores ambientais, incluindo nutrição, *stress* psicossocial, toxinas, perturbações endócrinas, tabaco, álcool, e microbiota, afetam enquadramentos epigenéticos individuais (F0) e, portanto, vias e redes de genes, de maneiras que diferem entre os sexos. Por exemplo, exposição materna e paterna antes da concepção dos seus descendentes pode modificar a qualidade do gameta e a informação sobre estas exposições pode ser transmitida para a próxima geração (F1). Além disso, a consequência da exposição materna (F0) durante a gravidez (*stress*, metabolismo, dieta, alterações hormonais, etc.) pode ser transmitida da mãe para o compartimento fetal via placenta, numa forma dependente do sexo, com efeitos no desenvolvimento do tecido F1. A programação dos tecidos somáticos pode levar a alterações nos resultados de saúde a longo prazo na primeira geração. Além disso, as células germinativas primordiais, que desenvolvem e sofrem reprogramação durante o desenvolvimento fetal, podem também ser afetadas pelo ambiente materno F0 e podem transmitir informação genética e epigenética à geração F2. Estas influências são transmitidas diferentemente pelas linhagens materna e paterna. Em particular, a exposição multigeracional na linhagem materna pode ser vista nas gerações F0, F1 e F2, com um fenótipo transgeracional observado em F3, enquanto que na linhagem paterna, a exposição multigeracional refere-se às gerações F0 e F1, e um fenótipo transgeracional é visto nas gerações F2 e F3. De [55].

A nossas experiências no útero e durante os dois primeiros anos de vida (o conceito de 1000 dias) são um claro determinante do nosso capital de saúde. No entanto, as fases anteriores à concepção, começando pela gametogénese e a diferenciação entre efeitos nas células germinativas primordiais, os gâmetas, também são importantes e devem ser levadas em consideração.

O principal desafio é identificar o meio através do qual esta informação, ligada às consequências ambientais ou a uma mudança fisiopatológica, é carregada e transferida de uma geração para outra. As principais vias de investigação têm convergido para certas regiões do DNA (genes, sequências repetidas, etc.) nas quais as marcas epigenéticas podem escapar parcialmente de sucessivas fases de reprogramação – eliminação, estabelecimento e manutenção – ligadas à eliminação zigótica após a fertilização. Foi

sugerido que estas regiões poderiam carregar ou mediar alterações persistentes na configuração da cromatina após exposições a um fator ambiental. A significância de um RNA não codificante (curto e longo) está a tornar-se incrivelmente evidente [3]. Também está claramente a emergir a existência de vários novos vetores, tais como exossomas, priões, metabólitos, agentes patogénicos, substâncias químicas e microbiota materna, que também têm papéis não negligenciáveis [4].

Respostas transgeracionais à programação: um círculo vicioso ou resiliência?

Se a programação ocorre, sempre sob a influência do meio ambiente durante o desenvolvimento, ou herdada dos pais, pode ser vista como o “primeiro evento”. Isto confere frequentemente não mais do que um estado latente, uma sensibilidade ao “segundo evento”, e é revelado posteriormente por uma acumulação de fatores ambientais de risco, levando a que um limite seja ultrapassado. Isto não corresponde, contudo, estritamente aos “efeitos” a longo prazo. Em vez disso, refere-se a todos os elementos que condicionam a “capacidade de resposta” (aumentos ou decréscimos) de tecidos ou órgãos programados, conferindo uma predisposição à vulnerabilidade ou resiliência. Ao longo destes processos, também se depende do historial genético.

A maioria dos estudos fenotípicos têm sido limitados a explorações do sistema perturbado por exposição parental ou ancestral: o metabolismo para exposição nutricional ou o comportamento para exposição ao *stress*, por exemplo. Contudo, dependendo da fase de exposição, estes distúrbios podem afetar sistemas diferentes, ou até mesmo todos os sistemas. Assim, a exposição paterna ao *stress* tem sido ligada não só a problemas comportamentais, mas também a problemas metabólicos nos descendentes [5]. A fenotipagem de descendentes em modelos animais foca-se geralmente em efeitos prejudiciais, ignorando assim a proporção não desprezível de indivíduos “resistentes” com respostas adaptativas positivas à exposição dos seus pais ou avós [6, 7]. Mesmo assim, estudos em *Caenorhabditis elegans* e *Drosophila* revelaram a existência, em alguns casos, de uma capacidade para se adaptar, ou resiliência. A programação pode dotar as redes de genes com uma capacidade para responder mais rapidamente a um desafio ambiental [1]. Respostas opostas aos efeitos iniciais também podem ser observadas. Por exemplo, no grupo Overkalix (Suécia), descobriu-se que a desnutrição masculina antes da adolescência levava a um baixo risco de morte por problemas cardiovasculares duas gerações mais tarde [6]. Ambientes enriquecidos podem também induzir uma resposta transgeracional favorável, com melhor desempenho ou uma resposta protetora ou compensatória melhor em casos de má programação [8]. Finalmente, interações entre o pai e a mãe e entre os jovens e as suas mães são relevantes [9-11]. As respostas observadas em descendentes podem assim ser variadas e podem diferir dos efeitos do impacto inicial nos pais, desde o círculo vicioso mais frequentemente relatado a uma adaptação que abre novas possibilidades.

Dimorfismo sexual e hereditariedade não genética

Estudos da expressão do gene e marcas e modificações epigenéticas revelaram a existência de mecanismos diferentes de adaptação ambiental em machos e fêmeas, tanto em humanos como em animais modelo [11-15]. Os efeitos da, e respostas à, programação podem afetar a descendência de ambos os sexos, ou podem afetar um dos sexos mais do que o outro [7, 16, 17]. Além disso, dependendo da natureza do meio ambiente, da janela de desenvolvimento e da duração da exposição, o sexo do progenitor transmissor pode também condicionar a resposta do descendente ao meio ambiente. Após a exposição (ou uma ausência de exposição) as substâncias tóxicas, álcool, sub ou supernutrição, durante uma janela de desenvolvimento particular ou após o desmame, certas características fenotípicas podem ser herdadas unicamente do pai, unicamente da mãe, ou de ambos os pais igualmente [11, 18, 19]. O grupo Overkalix proporciona uma boa ilustração destas diferenças. O risco de doenças cardiovasculares e diabetes num homem ou numa mulher depende da abundância ou falta de alimento aos quais os avós, mas

apenas os avós paternos, foram expostos antes da puberdade [13]. A informação é transmitida pelo avô paterno aos seus netos, mas não às suas netas. Resultados semelhantes foram relatados para os roedores, para subnutrição ou consumo de nozes de areca [11, 20]. A transmissão de características comportamentais do pai para os seus descendentes femininos, mas não para os seus descendentes masculinos, também foi observada em ratos geneticamente idênticos, mostrando heterogeneidade fenotípica em termos de comportamento [21].

A exposição a certos meios ambientes pode afetar a linha germinal do pai ou da mãe (ou ambas), todos os seus tecidos somáticos, e os seus sistemas reprodutivos, incluindo o trato genital e o meio ambiente. Isto resulta num complexo diálogo entre estes sistemas que pode levar à transferência combinada às gerações subsequentes [10, 13, 14, 22] (Figura 2).

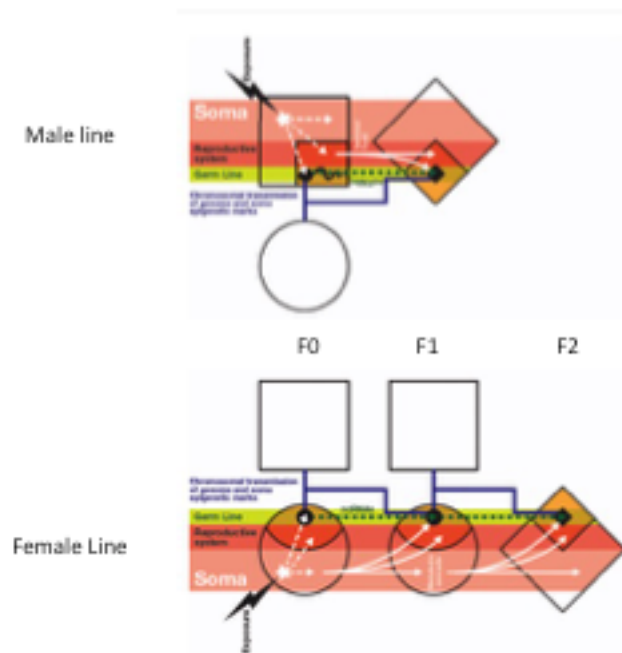


Figure 2. Diagrama esquemático de linhagem mostrando os caminhos principais para a transmissão biológica dos efeitos da exposição às gerações subsequentes

À esquerda, linha feminina; direita, linha masculina. A exposição pode potencialmente afetar a linha germinal, o sistema reprodutivo e os tecidos somáticos. As linhas de linhagem tradicional (azul) mostram transmissão cromossômica, com a possibilidade de marcas epigenéticas induzidas por exposição que evitam eliminação e afetam o desenvolvimento dos descendentes. A linha germinativa pode potencialmente transmitir RNA não codificantes induzidos por exposição (ncRNAs) que influenciam o desenvolvimento dos descendentes. As mudanças de metabolismo induzidas por exposição podem estabelecer uma “cascata metabólica”, de tal modo que as alterações no trato reprodutivo influenciam a programação embrionária dos descendentes ou altere os sinais metabólicos através da placenta. Uma via maternal adicional de transmissão é a influência do microbioma da mãe naquele da sua criança. De [13].

A linha germinativa e os gametas podem mostrar diferenças genéticas (XX ou XY), ontogenéticas, morfológicas e funcionais entre os sexos. As diferenças não genéticas resultam de assimetria epigenética, que pode continuar após a fertilização [23, 24]. Na concepção, os gametas entregam a herança genética, o DNA, que forma o genoma do embrião. Eles também transmitem os diferentes epigenomas e moléculas de RNA do pai e da mãe, e mitocôndrias e um número de proteínas apenas da mãe. Assim, além da herança genética do embrião, os pais também transmitem informações epigenéticas, à base de proteína e metabólicas relacionadas à exposição a fatores ambientais, experiência, estado fisiopatológico, idade, classe social, educação dos pais, e ordem de nascimento e peso [11,25].

A transmissão materna tem sido tradicionalmente estudada mais extensivamente, mas maioritariamente no que diz respeito às respostas inter ou multigeracionais em termos de crescimento e desenvolvimento embrionário ou fetal durante a gestação ou lactação (Figura 1). Muitas condições fisiológicas maternas, não necessariamente envolvendo a linha germinativa, têm sido estudadas: condições metabólicas, nutrição, exposição a substâncias tóxicas ou *stress* ou livre escolha para acasalar com machos atrativos [4, 26-31]. A transmissão epigenética via linha materna foi demonstrada em roedores [32-34], mas é geralmente difícil de distinguir o que foi transmitido pelo gameta do que aquilo foi transmitido através da unidade materno-fetal durante a gestação. Em contrapartida, estudos de transmissão paterna, embora menos comuns, levantaram questões sobre o mecanismo pelo qual os espermatozoides transmitem informações: as possibilidades incluem via marcas epigenômicas, RNA não codificante ou o fluido seminal [10, 11, 13, 25] (Figura 3).

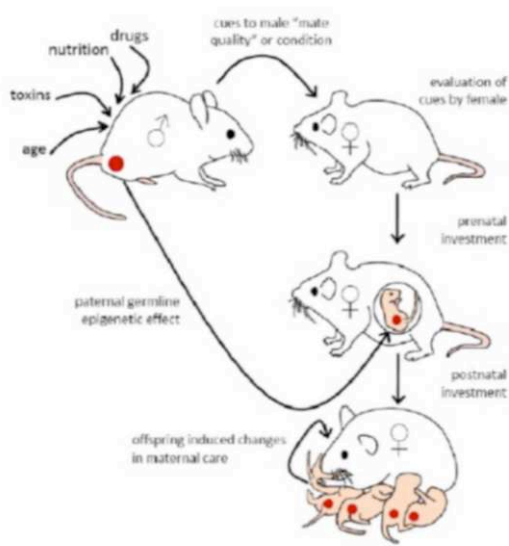


Figura 3 – Ilustração de vias não genéticas através das quais os efeitos paternos no desenvolvimento dos descendentes podem ocorrer. As experiências dos machos (drogas, nutrição, toxinas, idade, stress), particularmente durante o desenvolvimento inicial, podem levar a alterações epigenéticas na linha germinativa masculina (círculo vermelho), que são então transmitidas aos descendentes com consequências para a variação fenotípica. Alternativamente, ou provavelmente em combinação com estes efeitos paternos diretos, as experiências de um macho antes do acasalamento podem levar a mudanças na qualidade ou preferência do companheiro, que podem ser avaliadas pela fêmea na altura do acasalamento. Esta avaliação pode levar a diferenças no investimento materno pré-natal e/ou pós-natal no crescimento e desenvolvimento do descendente gerado por este acasalamento, com consequências para a variação fenotípica nesta descendência. O investimento materno pode também variar com variações paternalmente mediadas nos fenótipos de descendentes, durante ambos os períodos, pré-natal e pós-natal. As diferenças do investimento materno em função das experiências paternas ou traços da descendência podem tanto aumentar a transmissão da memória da exposição paternal como compensar por défices de funcionamento derivados dessa exposição. De [11].

As várias fases de reprogramação e as reviravoltas do apagamento de marcas

Foram estudadas duas fases principais da reprogramação, o apagamento das marcas parentais: a primeira ocorre no zigoto, logo após a fertilização, e a outra ocorre na linha germinativa, quando as células germinativas primordiais migram para as cristas genitais antes da diferenciação sexual (Figura 4a e 4c) [35].

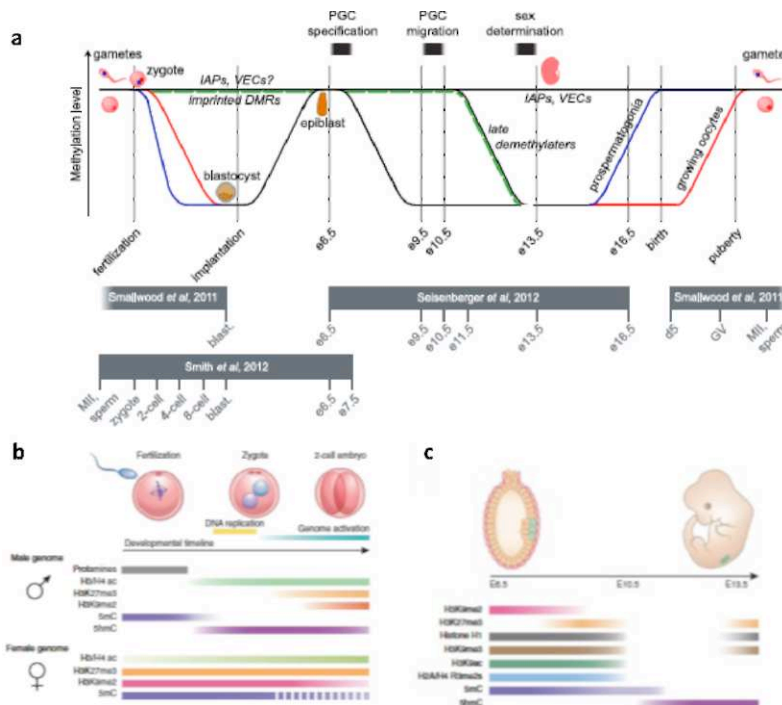


Figura 4. Mudanças epigenéticas durante reprogramação in vivo

(a) Dinâmica de metilação do DNA durante a reprogramação desenvolvimental. Após a fertilização o genoma paterno (linha azul) é rapidamente desmetilado por mecanismos ativos, enquanto o genoma materno (linha vermelha) é passivamente desmetilado. Regiões diferentemente metiladas (RDMs) associadas com os genes marcados são protegidos deste apagamento (linha verde tracejada). A metilação “de novo” ocorre após a implantação (linha preta), mas as células germinativas primordiais (CGPs) não são especificadas até à fase deepiblasto (sombreado na parte superior da figura). Esta metilação deve ser reiniciada em CGPs. A

figura mostra as dinâmicas da metilação, de E6.5, das células que formam somente a linha germinativa. Muitas sequências são desmetiladas por E9.5 em CGPs. Algumas sequências estão sujeitas à desmetilação tardia e só são reprogramadas depois da migração da CGP. Estas sequências incluem, mas não estão limitadas a, às RDMs gravadas. Partículas A intracisternas PAIs são resistentes à desmetilação tanto na pós-fertilização como nas ondas de reprogramação CGP. Ilhas CG variavelmente apagadas (VECs) podem resistir ao apagamento durante a reprogramação CGP, mas os seus estados de metilação durante a reprogramação pós-fertilização não estão claros. Após a determinação do sexo, as células germinativas sofrem a metilação “de novo”, mas as dinâmicas são específicas a cada sexo. A metilação é completada na pro-espermatogonia antes do nascimento, enquanto que a metilação nos oócitos é estabelecida durante o crescimento pós-natal. Na fase adulta, os gametas são metilados apropriadamente para formar um novo zigoto e recomeçar o ciclo da dinâmica da metilação. Mostramos abaixo as janelas de desenvolvimento investigadas em três estudos chave, com os pontos no tempo específicos analisados indicados. blast., blastócisto. d5, oócitos ao 5º dia., GV, oócitos vesícula germinal. MII, oócitos metáfase II. De [35].

(b) Mudanças epigenéticas durante reprogramação “in vivo”. Diagrama esquemático do DNA global e das modificações da histona levando à ativação transcricional do genoma embrionário entre o zigoto final (genoma unicamente paterno) e a fase de duas células. Os genomas de gametas sofrem diferentes programas epigenéticos após a fertilização, com o genoma paterno maioritariamente sujeito à remodelação epigenética na fase de zigoto e o genoma materno a perder gradualmente modificações repressivas durante as cisões subsequentes. (b) Mudanças epigenéticas globais durante o desenvolvimento da linha germinativa desde a especificação CGP (E6.5) até à paragem mitótica/meiótica em E13.5. Duas grandes fases de reprogramação podem ser distinguidas durante a migração CGP para as cristas genitais (E7.5-E10.5) e após a sua chegada às gónadas (E10.5-E12.5. De [57].

(c). Mudanças epigenéticas globais durante o desenvolvimento da linha germinativa desde a especificação CGP (E6.5) até à paragem mitótica/meiótica em E13.5. Duas grandes fases de reprogramação podem ser distinguidas durante a migração CGP para as cristas genitais (E7.5-E10.5) e após a sua chegada às gónadas (E10.5-E12.5. De [57].

A reprogramação dos genomas parentais no zigoto foi, durante muito tempo, considerada quase completa. Entretanto, as marcas de histona e os padrões de metilação de certas sequências de DNA podem não ser apagadas [36]. Duas outras fases também podem ser consideradas como processos de reprogramação: a compactação final da cromatina dos espermatozoides, ligada à substituição de uma grande proporção de histonas por protaminas (Figura 4b) e as grandes mudanças, particularmente durante a reorganização do cérebro e a sua maturação durante a puberdade. Esta última fase de reprogramação ainda não foi estudada em detalhe [37].

Uma destas fases, envolvendo o apagamento das marcas epigenéticas específicas dos gametas, leva à aquisição de um epigenoma totipotente, permitindo às células do embrião a diferenciação em qualquer tipo de célula (Figura 4b). Algumas sequências, tais como aquelas dos genes sujeitos a impressão parental, escapam a este processo. Após outra fase de reprogramação ligada à linha germinativa, a remetilação do DNA depois da determinação do sexo facilita a aquisição de um programa de expressão muito específico, incluindo genes impressos, para a diferenciação de gameta (Figura 4c). Dada a assimetria epigenética dos gametas do pai e da mãe, marcas sensíveis não apagadas podem diferir entre cromossomas de origem paterna e materna no zigoto. Os mecanismos envolvidos ainda não foram determinados, mas estas observações sugerem que as possibilidades para transmissão podem diferir em função do progenitor transmissor [38] (Figura 5).

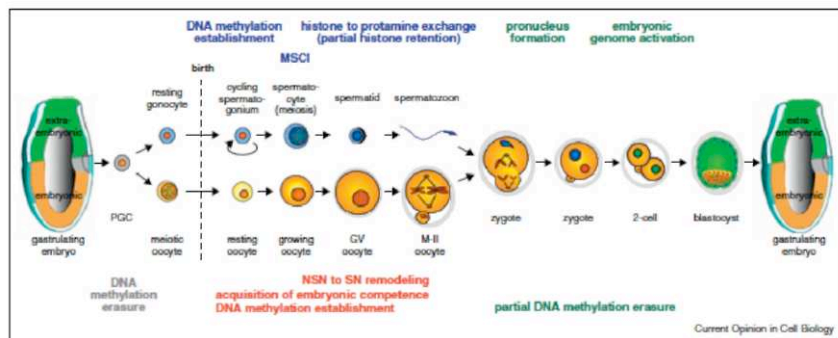


Figura 5. Ciclo de vida da gametogênese de mamíferos e embriogênese

As células germinativas primordiais (CGP) surgem a partir de células da região proximal do epiblasto. Elas sofrem um extensivo apagamento da metilação do DNA e mudanças na cromatina durante a migração e a entrada na gônada. Direcionadas pelo ambiente gonadal somático, as células germinativas são destinadas para um destino feminino ou masculino. Células germinativas masculinas, inicialmente chamadas gonócitos, têm ciclos celulares parados e começam a estabelecer padrões de metilação de DNA específicos do sexo masculino. Durante a subsequente profase meiótica, os cromossomos X e Y sofrem desativação meiótica do cromossoma sexual (IMCS) caracterizada por grandes eventos de remodelação de cromatina. Após as divisões meióticas, os espermátides haplóides sofrem grandes alterações nucleares e morfológicas, incluindo uma substituição de histonas por protaminas a nível de quase todo o genoma. No entanto, os nucleossomos são retidos em sequências regulatórias, fornecendo um possível meio de herança epigenética. As células germinativas femininas entram na profase meiótica no embrião e completam as suas divisões meióticas após a indução hormonal no ovário adulto e fertilização via esperma. Durante a fase de crescimento, os oócitos estabelecem a metilação do DNA nos genes e imprimem regiões de controle, sofrem remodelação da cromatina e adquirem competência para a direção da embriogênese. Após a fertilização, os genomas parentais formam dois pronúcleos que são epigeneticamente diferentes, refletindo a história de eventos de remodelação de cromatina específica da linha germinativa parental. Os genomas paterno e materno sofrem apagamento passivo e ativo da metilação do DNA. A assimetria dos estados da cromatina de cromossomos paterno e materno pode potencialmente regular a ativação e repressão da expressão do gene “de novo” na pré-implantação dos embriões, desse modo dirigindo a embriogênese. Um estado epigenético latente, caracterizado pela presença de marcas bivalentes H3K4me3 e H3K27me3 nos promotores de genes envolvidos no desenvolvimento, não expressado nestas fases, é uma propriedade fundamental do núcleo de células germinativas mamíferas, permitindo que gametas diferenciados iniciem um programa totipotente imediatamente após a fertilização [58]. De [38].

O apagamento incompleto de algumas marcas epigenéticas parentais – metilação do DNA e marcas histônicas – e os sistemas *polycomb* e *trithorax* tornam possíveis a programação e transmissão transgeracional de impactos ambientais [36, 39]. Estas regiões são então candidatas ideais para a transferência de informação de exposição ambiental. Dependendo do cromossoma em questão, e particularmente se os cromossomos X e Y mostram esta diferença, será que estas regiões poderiam explicar as diferenças nos efeitos na descendência feminina ou masculina? O problema principal aqui é que os mecanismos epigenéticos envolvidos são dinâmicos e mudam rapidamente com a variação ambiental. Também se baseiam em camadas múltiplas de caminhos parcialmente redundantes, que podem ser sinérgicos, inibitórios ou ativadores, dependendo do contexto [40, 41]. Assim, se o impacto da exposição de futuros pais aos fatores ambientais vários anos antes da concepção afeta precisamente este tipo de sequência [4, 13, 14, 42], então estas sequências podem ser responsáveis pelas respostas transgeracionais observadas nos descendentes.

Contudo, provavelmente por razões técnicas potencialmente ligadas à composição de variantes de histonas, os vários estudos realizados não identificaram os mesmos tipos de sequência. Os nucleossomos identificados foram localizados principalmente em genes críticos para o desenvolvimento precoce ou tardio [43], e nas sequências regulatórias, mas alguns foram também encontrados em sequências repetidas contendo poucos genes [44]. Estas sequências são candidatas potenciais para hereditariedade epigenética.

Intermediários misteriosos a passar a mensagem de geração em geração

Na fertilização, tanto em humanos quanto em ratos, há muito mais locais metilados nos espermatozoides do que nos oócitos [45]. Há desmetilação extensiva e ao mesmo tempo localmente específica nos pronúcleos masculino e feminino após a fertilização. Este processo envolve tanto o mecanismo ativo como o passivo, dependendo da origem parental do cromossoma [45]. É amplamente aceite que apenas genes marcados escapam a este processo de desmetilação. No entanto, um estudo recente mostrou que outros genes também são resistentes [46]. Neste modelo em ratos de subnutrição na avó (F0), o espermatozoide do pai (F1) mostra um distúrbio do metiloma em regiões diferentemente metiladas (RDMs), com efeitos no metabolismo dos seus descendentes (F2)[46]. Curiosamente, 43% das RDMs hipometiladas em F1 também foram hipometiladas na geração F2 e portanto tiveram potencial para afetar o desenvolvimento desta geração subsequente. Muitos dos genes afetados estão expressados na linha germinativa, mas alguns também se expressam nos tecidos somáticos. Contudo, embora esta metilação diferencial se perdesse a partir da geração F2 no final da gestação, grandes diferenças persistiram na impressão dos genes envolvidos no metabolismo localizados próximo a estas RDMs. Parece, portanto, improvável que estas mudanças em expressão sejam diretamente controladas pela metilação do DNA [46]. Um processo semelhante foi descrito para as repercussões na segunda geração dos efeitos da obesidade materna induzida por dieta [47]. Estes exemplos mostram que os perfis epigenéticos desregulados no início do desenvolvimento são capazes de passar a tocha para outras entidades, induzindo assim outras mudanças ainda não identificadas que podem afetar a arquitetura da cromatina, redes de fatores de transcrição, ou a diferenciação ou a estrutura dos tecidos. No modelo de resistência à dependência de cocaína, a mesma modificação (acetilação da histona) ao mesmo gene (*Bdnf*) foi observada no espermatozoide do pai e no córtex pré-frontal da sua descendência masculina resistente [48]. Como a acetilação da histona é uma marca associada à expressão, esta observação não pode ser vista como prova de que este é o mecanismo responsável pela transferência de informação. Os dois exemplos citados acima apenas parecem ser contraditórios; não excluem, de forma alguma, o possível envolvimento de um processo epigenético. As marcas epigenéticas pertinentes envolvidas provavelmente não foram estudadas ou não foram estudadas na fase apropriada. Dado o diálogo que se sabe ocorrer entre marcas, seria expectável existir mais do que um tipo de marca a envolvida, junto com outros processos não epigenéticos. Estas associações são a causa ou uma consequência das dinâmicas destas marcas? A questão importante a ser abordada aqui é a verdadeira ligação causal entre as marcas epigenéticas e os fenótipos observados.

RNAs não codificantes

Durante a fertilização, o espermatozoide não só fornece o genoma haplóide paterno, como também liberta 24.000 RNAs não codificantes (ncRNAs: siRNA, piRNA e miRNA...) no oócito. O RNA de esperma tem sido observado como transmissor de caracteres adquiridos em roedores. Em particular, o uso de esperma de animais maltratados mostrou a reprodução de alterações metabólicas ou comportamentais nos descendentes semelhantes às observadas no pai [5, 26, 32, 34, 49-51].

Uma reportagem recente sugeriu que o RNA isolado do esperma pode fornecer à descendência informação sobre a história de trauma precoce (através de *stress* materna) na vida do pai, com os efeitos e repostas a persistir até a terceira geração [5]. No entanto, uma vez mais, a ausência de uma presumida alteração

epigenética causal sugere que a marca inicial pode ser transposta para outras marcas ou complexos epigenéticos através duma troca. As modificações epigenéticas presentes nas células do esperma após a exposição ao *stress* materno podem então ser convertidas noutras marcas, que podem ou não ser epigenéticas em natureza, para subsequente transmissão [30, 52].

O envolvimento do ncRNA em efeitos e respostas transgeracionais foi recentemente demonstrado numa espécie invertebrada deficiente em metilação do DNA, *C. elegans* [27]. A exposição a partículas virais levou à aparência de ncRNAs derivados do vírus, que inibiram a expressão do genoma viral, através de mecanismos de interferência RNA, ao longo de várias gerações, conferindo assim uma “imunidade” transmissível [53]. A falta de alimento durante a fase larval também leva à aparência de microRNAs (miRNAs) que visam transcrições para proteínas envolvidas na alimentação e levando a um aumento da longevidade da terceira geração. Estes miRNAs lidam com todas as eventualidades, com também alguns visam genes que são normalmente desligados mas podem ser induzidos em resposta ao *stress* [54].

Perspetivas

As influências dos fatores ambientais nos processos epigenéticos revolucionaram a nossa visão da transmissão transgeracional de informação, mas várias questões-chaves permanecem sem resposta: Qual é a verdadeira natureza do impacto dos fatores ambientais? Qual é a natureza dos alvos destes fatores (marcas e/ou conformação)? Qual é a natureza dos alvos aos quais a informação é transferida? Os mecanismos estão envolvidos direta ou indiretamente? Como é que a informação armazenada persiste ao longo das gerações? Quais são as janelas de sensibilidade ou insensibilidade a estes fatores? Como é que as diferenças relativamente ao sexo dos pais impõem o dimorfismo sexual na descendência e, até, nas gerações subsequentes [4, 13, 26, 29, 55]?

Ainda não há um modelo federativo para o papel da epigenética nos efeitos/respostas inter e transgeracionais [29].

Idealmente, antes de se concluir que um efeito transgeracional é epigenético em natureza, dados os relacionamentos bidirecionais entre a genética e a epigenética, a sequenciação deve ser realizada para verificar mutações “de novo”; de forma análoga, a fertilização *in vitro* e a transferência de embrião ou a adoção cruzada deveriam ser realizados, para controlar outras possibilidades, tais como investimento materno induzido pelo pai. Essas experiências são possíveis em modelos animais, mas muito mais difíceis em humanos. Os genes e sequências que escapam à reprogramação e os mecanismos envolvidos começam a ser identificados e são bons candidatos ao envolvimento em efeitos transgeracionais. Estudos dos efeitos do meio ambiente tornariam possível determinar se estas sequências carregam uma memória destes efeitos ou se outras sequências podem obter a mesma capacidade de resistir ao apagamento de marcas. Em contraste, os processos, epigenéticos ou outros, pelos quais a informação é propagada são desconhecidos, como aqueles nos quais se baseiam as diferenças em transmissão do pai e da mãe. Acima de tudo, muito poucos estudos se focaram nos efeitos do meio ambiente nestes processos, para determinar como a memória de eventos pode ser transmitida e revelar a natureza dos suportes intermediários sucessivos. A maioria dos estudos de reprogramação foi realizada em ratos [35, 56]. A conservação de certos mecanismos entre espécies abre possibilidades interessantes.

A autora agradece a Polina Panchenko, Sara Fneich, Luciano Pirola, Sabrina Chriett, Valérie Amarger, Bertrand Kaeffer, Patricia Parnet, Jérôme Torrisani, Francisco Bolaños Jimenez, Héléne Jammes e Anne Gabory, pela sua leitura cuidadosa do manuscrito.

1. Junien C, et al: **Le nouveau paradigme de l'Origine développementale de la santé et des maladies (DOHaD), Epigénétique, Environnement : preuves et chaînons manquants.** *Medecine Sciences* 2015.

2. Barker DJP, Osmond C: **Infant mortality, childhood nutrition and ischaemic heart disease in England and Wales.** *The Lancet* 1986, **327**:1077-1081.
3. Yan W: **Potential roles of noncoding RNAs in environmental epigenetic transgenerational inheritance.** *Mol Cell Endocrinol* 2014, **398**:24-30.
4. Grossniklaus U, Kelly WG, Ferguson-Smith AC, Pembrey M, Lindquist S: **Transgenerational epigenetic inheritance: how important is it?** *NatRev Genet* 2013, **14**:228-235.
5. Gapp K, Jawaid A, Sarkies P, Bohacek J, Pelczar P, Prados J, Farinelli L, Miska E, Mansuy IM: **Implication of sperm RNAs in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice.** *Nat Neurosci* 2014, **17**:667-669.
6. Kaati G, Bygren LO, Edvinsson S: **Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period.** *Eur J Hum Genet* 2002, **10**:682-688.
7. Attig L, Vige A, Gabory A, Karimi M, Beauger A, Gross MS, Athias A, Gallou-Kabani C, Gambert P, Ekstrom TJ, et al: **Dietary alleviation of maternal obesity and diabetes: increased resistance to diet-induced obesity transcriptional and epigenetic signatures.** *PLoS One* 2013, **8**:e66816.
8. Arai JA, Feig LA: **Long-lasting and transgenerational effects of an environmental enrichment on memory formation.** *Brain Res Bull* 2011, **85**: 30-35.
9. Junien C: **L'empreinte parentale : de la guerre des sexes à la solidarité entre générations.** *Médecine/Sciences* 2000, **3**:336-344.
10. Bromfield JJ, Schjenken JE, Chin PY, Care AS, Jasper MJ, Robertson SA: **Maternal tract factors contribute to paternal seminal fluid impact on metabolic phenotype in offspring.** *Proc Natl Acad Sci USA* 2014, **111**:2200-2205.
11. Curley JP, Mashoodh R, Champagne FA: **Epigenetics and the origins of paternal effects.** *Horm Behav* 2011, **59**:306-314.
12. Junien C, Gabory A, Attig L: **[Sexual dimorphism in the XXI(st) century].** *Med Sci (Paris)* 2012, **28**:185-192.
13. Pembrey M, Saffery R, Bygren LO: **Human transgenerational responses to early-life experience: potential impact on development, health and biomedical research.** *J Med Genet* 2014, **51**:563-572.
14. Lane M, Robker RL, Robertson SA: **Parenting from before conception.** *Science* 2014, **345**:756760.
15. Dunn GA, Morgan CP, Bale TL: **Sex-specificity in transgenerational epigenetic programming.** *Horm Behav* 2010, **59**:290-295.
16. Drake AJ, Walker BR: **The intergenerational effects of fetal programming: non-genomic mechanisms for the inheritance of low birth weight and cardiovascular risk.** *J Endocrinol* 2004, **180**:1-16.
17. Anderson LM, Riffle L, Wilson R, Travlos GS, Lubomirski MS, Alvord WG: **Preconceptional fasting of fathers alters serum glucose in offspring of mice.** *Nutrition* 2006, **22**:327-331.
18. Dunn GA, Bale TL: **Maternal high-fat diet effects on third-generation female body size via the paternal lineage.** *Endocrinology* 2011, **152**:2228-2236.
19. Anway MD, Skinner MK: **Epigenetic programming of the germ line: effects of endocrine disruptors on the development of transgenerational disease.** *Reprod Biomed Online* 2008, **16**:23-25.
20. Martinez D, Pentinat T, Ribo S, Daviaud C, Bloks VW, Cebria J, Villalmanzo N, Kalko SG, Ramon-Krauel M, Diaz R, et al: **In utero undernutrition in male mice programs liver lipid metabolism in the second-generation offspring involving altered Lxra DNA methylation.** *CellMetab* 2014. Jun 3;19(6):941-51
21. Alter MD, Gilani AI, Champagne FA, Curley JP, Turner JB, Hen R: **Paternal transmission of complex phenotypes in inbred mice.** *Biol Psychiatry* 2009, **66**:1061-1066.
22. Alminana C, Caballero I, Heath PR, Maleki-Dizaji S, Parrilla I, Cuello C, Gil MA, Vazquez JL, Vazquez JM, Roca J, et al: **The battle of the sexes starts in the oviduct: modulation of oviductal transcriptome by X and Y-bearing spermatozoa.** *BMC Genomics* 2014, **15**:293.
23. Hackett JA, Surani MA: **Beyond DNA: programming and inheritance of parental**

methyloomes. *Cell* 2013, **153**:737-739.

24. Duffie R, Bourc'h D: **Parental epigenetic asymmetry in mammals.** *Curr Top Dev Biol* 2013, **104**:293-328.
25. Rando OJ: **Daddy issues: paternal effects on phenotype.** *Cell* 2012, **151**:702-708.
26. Daxinger L, Whitelaw E: **Understanding transgenerational epigenetic inheritance via the gametes in mammals.** *NatRev Genet* 2012, **13**:153-162.
27. Lim JP, Brunet A: **Bridging the transgenerational gap with epigenetic memory.** *Trends Genet* 2013, **29**:176-186.
28. Aiken CE, Ozanne SE: **Transgenerational developmental programming.** *Hum Reprod Update* 2014, **20**:63-75.
29. Heard E, Martienssen RA: **Transgenerational epigenetic inheritance: myths and mechanisms.** *Cell* 2014, **157**:95-109.
30. Drake AJ, Seckl JR: **Transmission of programming effects across generations.** *Pediatr Endocrinol Rev* 2011, **9**:566-578.
31. Gowaty PA, Anderson WW, Bluhm CK, Drickamer LC, Kim YK, Moore AJ: **The hypothesis of reproductive compensation and its assumptions about mate preferences and offspring viability.** *Proc Natl Acad Sci USA* 2007, **104**:15023-15027.
32. Rassoulzadegan M, Grandjean V, Gounon P, Vincent S, Gillot I, Cuzin F: **RNA-mediated non-Mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse.** *Nature* 2006, **441**:469-474.
33. Weiss IC, Franklin TB, Vizi S, Mansuy IM: **Inheritable effect of unpredictable maternal separation on behavioral responses in mice.** *Front Behav Neurosci* 2011, **5**:3.
34. Wagner KD, Wagner N, Ghanbarian H, Grandjean V, Gounon P, Cuzin F, Rassoulzadegan M: **RNA induction and inheritance of epigenetic cardiac hypertrophy in the mouse.** *Dev Cell* 2008, **14**:962-969.
35. Cowley M, Oakey RJ: **Resetting for the next generation.** *Mol Cell* 2012, **48**:819-821.
36. Holland ML, Rakyan VK: **Transgenerational inheritance of non-genetically determined phenotypes.** *Biochem Soc Trans* 2013, **41**:769-776.
37. Morrison KE, Rodgers AB, Morgan CP, Bale TL: **Epigenetic mechanisms in pubertal brain maturation.** *Neuroscience* 2014, **264**:17-24.
38. Gill ME, Erkek S, Peters AH: **Parental epigenetic control of embryogenesis: a balance between inheritance and reprogramming?** *Curr Opin Cell Biol* 2012, **24**: 387-396.
39. Hajkova P, Erhardt S, Lane N, Haaf T, El-Maarri O, Reik W, Walter J, Surani MA: **Epigenetic reprogramming in mouse primordial germ cells.** *Mech Dev* 2002, **117**:15-23.
40. Riising EM, Comet I, Leblanc B, Wu X, Johansen JV, Helin K: **Gene silencing triggers polycomb repressive complex 2 recruitment to CpG islands genome wide.** *Mol Cell* 2014, **55**:347-360.
41. Festenstein R, Chan JP: **Context is everything: activators can also repress.** *Nat Struct Mol Biol* 2012, **19**:973-975.
42. Brydges NM, Jin R, Seckl J, Holmes MC, Drake AJ, Hall J: **Juvenile stress enhances anxiety and alters corticosteroid receptor expression in adulthood.** *Brain Behav* 2014, **4**:4-13.
43. Hammoud SS, Nix DA, Zhang H, Purwar J, Carrell DT, Cairns BR: **Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development.** *Nature* 2009, **460**:473-478.
44. Saitou M, Kurimoto K: **Paternal nucleosomes: are they retained in developmental promoters or gene deserts?** *Dev Cell* 2014, **30**:6-8.
45. Smith ZD, Chan MM, Humm KC, Karnik R, Mekhoubad S, Regev A, Eggan K, Meissner A: **DNA methylation dynamics of the human preimplantation embryo.** *Nature* 2014, **511**:611-615.
46. Radford EJ, Ito M, Shi H, Corish JA, Yamazawa K, Isganaitis E, Seisenberger S, Hore TA, Reik W, Erkek S, et al: **In utero effects. In utero undernourishment perturbs the adult sperm methylome and intergenerational metabolism.** *Science* 2014, **345**:1255-1260.

47. King V, Dakin RS, Liu L, Hadoke PW, Walker BR, Seckl JR, Norman JE, Drake AJ: **Maternal obesity has little effect on the immediate offspring but impacts on the next generation.** *Endocrinology* 2013, **154**:2514-2524.
48. Vassoler FM, White SL, Schmidt HD, Sadri-Vakili G, Pierce RC: **Epigenetic inheritance of a cocaine-resistance phenotype.** *Nat Neurosci* 2013, **16**:42-47.
49. Saab BJ, Mansuy IM: **Neuroepigenetics of memory formation and impairment: The role of microRNAs.** *Neuropharmacology* 2014, **80C**:61-69.
50. Liu WM, Pang RT, Chiu PC, Wong BP, Lao K, Lee KF, Yeung WS: **Sperm-borne microRNA-34c is required for the first cleavage division in mouse.** *Proc Natl Acad Sci USA* 2012, **109**:490-494.
51. Abramowitz LK, Bartolomei MS: **Genomic imprinting: recognition and marking of imprinted loci.** *Curr Opin Genet Dev* 2012, **22**:72-78.
52. Sharma A: **Bioinformatic analysis revealing association of exosomal mRNAs and proteins in epigenetic inheritance.** *J Theor Biol* 2014, **357**:143-149.
53. Rechavi O, Minevich G, Hobert O: **Transgenerational inheritance of an acquired small RNA-based antiviral response in *C. elegans*.** *Cell* 2011, **147**:1248-1256.
54. Rechavi O: **Guest list or black list: heritable small RNAs as immunogenic memories.** *Trends Cell Biol* 2014, **24**:212-220.
55. Gabory A, Roseboom TJ, Moore T, Moore LG, Junien C: **Placental contribution to the origins of sexual dimorphism in health and diseases: sex chromosomes and epigenetics** *Biol Sex Differ* 2013, **Mar 21**;4(1):5. [Epub ahead of print].
56. Reik W, Kelsey G: **Epigenetics: Cellular memory erased in human embryos.** *Nature* 2014, **511**:540-541.
57. Cantone I, Fisher AG: **Epigenetic programming and reprogramming during development.** *Nat Struct Mol Biol* 2013, **20**:282-289.
58. Lesch BJ, Dokshin GA, Young RA, McCarrey JR, Page DC: **A set of genes critical to development is epigenetically poised in mouse germ cells from fetal stages through completion of meiosis.** *Proc Natl Acad Sci USA* 2013, **110**:16061-16066.

~ Sobre a Autora ~

Claudine Junien



INRA, UMR1198 Biologie du Développement et Reproduction, F-78350 Jouy-en-Josas, France
claudine.junien@jouy.inra.fr

~ Como usar este artigo ~

O uso, partilha e reprodução deste conteúdo é livre através da citação deste artigo no seguinte format:

Junien C (2015). A Epigenética em Respostas Transgeracionais aos Impactos Ambientais: Factos e Lacunas. Em M.L. Frelut (Ed.), The ECOG's eBook on Child and Adolescent Obesity. Retirado de ebook.ecog-obesity.eu

Verifique que **dá o crédito apropriado** ao usar este conteúdo. Por favor visite ebook.ecog-obesity.eu/terms-use/summary/ para mais informação.

Palavra Final

Obrigado por ler este artigo.

Se considerou este artigo relevante, por favor partilhe-o com alguém que tenha interesse.

Também visite ebook.ecog-obesity.eu para ler e descarregar mais artigos relacionados com a obesidade infantil.