

EPIGENÉTICA E SEU PAPEL NO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

Luis Cesar Nunes Bastos¹, Daniela Pereira Carvalho², Tatianne Rosa dos Santos³

Resumo: A epigenética está envolvida em processos celulares normais e nas mudanças hereditárias que não envolvem variação na sequência de DNA. Em um organismo multicelular, essas mudanças influenciam a formação de células, tecidos e órgãos. No desenvolvimento do organismo, modificadores epigenéticos estabilizam a expressão gênica e garantem que padrões de metilação do DNA e de modificação de histonas sejam restabelecidos nas células após a divisão celular. Entretanto, há células de mamíferos que se reprogramam naturalmente, mediante o apagamento de marcas parentais e restauramento da totipotência durante a gametogênese e embriogênese. Essa reprogramação ocorre nos gametas quando se fundem para formar o zigoto e quando células germinativas primordiais (precursoras dos gametas) se desenvolvem e migram no embrião. A partir desses gametas e seus precursores, pode-se estudar os processos epigenéticos de desenvolvimento e diferenciação celular.

Palavras-Chave: marcas epigenéticas, células germinativas, código de histonas.

INTRODUÇÃO

Epigenética consiste no estudo das mudanças hereditárias na expressão gênica que independem de mudanças na sequência primária do DNA. Todas as células do corpo humano possuem o mesmo complemento de DNA, que se origina a partir de uma única célula no momento da concepção. A partir disso, para assegurar o desenvolvimento normal, existem mecanismos que irão contribuir para que a regulação de padrões dos diferentes tipos de células ocorra de maneira adequada. Um grande número de proteínas estabelece, lê e apaga modificações epigenéticas específicas, assim definindo onde e quando a maquinaria transcricional pode acessar as sequências de DNA para impulsionar o crescimento normal e a diferenciação no desenvolvimento embrionário e fetal. Modificações como

metilação de DNA em dinucleotídeos CpG, isto é, onde uma citosina precede uma guanina na fita do DNA, modificações covalentes de proteínas histonas e outros mecanismos complementares de organização da cromatina ocorrem dentro do núcleo da célula e são chamadas de marcas epigenéticas pois estas alterações irão transmitir informações que afetarão a expressão gênica de modo herdável (INBAR-FEIGENBERG et al, 2013).

Enquanto algumas marcas epigenéticas são estáveis ao longo do tempo em tecidos embrionários como no blastocisto na massa celular interna (SANTOS et al, 2002), outras demonstram plasticidade durante o desenvolvimento como a placenta (KAPPIL et al, 2016). Alterações epigenéticas ou “epimutações” que surgem podem levar a doenças

1 Universidade Federal de Juiz de Fora - cesar_nbastos@hotmail.com

2 Universidade Federal de Juiz de Fora - danielap.carvalho@hotmail.com

3 Universidade Federal de Juiz de Fora - tatiannersantos@yahoo.com.br

humanas, como artrite e osteoartrite e outras doenças osteoarticulares. Tanto fatores genéticos quanto ambientais impactam marcas epigenéticas, gerando variações fenotípicas, neste sentido a restrição alimentar materna ou o uso de tecnologias de reprodução assistida possuem estreita relação com alterações no epigenoma do embrião. Algumas das alterações epigenéticas associadas à restrição materna pode persistir até a idade adulta, provavelmente contribuindo para doenças de início tardio, como doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 (MATHERS, 2007).

Marcas epigenéticas

As marcas epigenéticas atuam como reguladoras da transcrição gênica num processo complexo. São estabelecidas durante o desenvolvimento embrionário e, no embrião, distinguem os cromossomos herdados do pai e da mãe. As marcas epigenéticas abordadas nessa revisão foram: metilação do DNA, modificação de histonas, metilação e acetilação de histonas. Assim como o imprinting genômico, fenômeno onde alelos de determinados genes são expressos de modo diferencial devido à uma marcação epigenética, a metilação do DNA. Essas marcas alteram a função dos padrões gênicos e das histonas marcadas e conseqüentemente, influenciam a forma como os genes serão expressos.

Metilação do DNA

A modificação epigenética mais estudada em mamíferos é a metilação da citosina no dinucleotídeo CpG. A metilação do DNA é um processo químico no qual um grupamento metil (CH₃) é transferido da S-adenosilmetionina para o carbono 5 de uma citosina que geralmente precede a uma guanina (dinucleotídeos CpG), criando assim a 5-metilcitosina (5mC) (AUCLAIR e

WEBER, 2012). Essa transferência é feita pela ação de uma família de enzimas que recebe o nome de DNA metiltransferase (DNMTs) (OLIVEIRA *et al*, 2010).

As DNMTs estão divididas em duas classes: as envolvidas na metilação de fitas hemimetiladas do DNA (fitas de DNA em processo de replicação); e as sem a presença de metilação prévia. Os doadores de radical metil são obtidos pela dieta e são principalmente a metionina, seguido do folato, colina e vitamina B12 (LARSEN *et al*, 1992; OLIVEIRA *et al*, 2010).

Outro grupo de enzimas é responsável pela desmetilação do DNA. O processo pode ser ativo ou passivo. A desmetilação ativa envolve as desmetilases e parece ser necessário para ativar genes específicos ou apagar a marca epigenética durante o desenvolvimento ou em respostas a perturbações ambientais. Na desmetilação passiva não há envolvimento de desmetilases e ocorre quando a manutenção pelas metiltransferases é inativa durante o ciclo celular (OLIVEIRA *et al*, 2010).

A metilação do DNA ocorre quase exclusivamente em dinucleotídeos CpG de células diferenciadas e tem importante função na regulação da expressão gênica e no silenciamento de elementos repetitivos no genoma. Ilhas CpG são regiões curtas, dispersas no DNA não metilado com alta frequência de dinucleotídeos CpG em relação a massa do genoma. As regiões ricas em CpG não estão distribuídas uniformemente ao longo do genoma, elas aparecem mais frequentemente entre as regiões promotoras e os primeiros éxons de genes específicos (LARSEN *et al*, 1992; OLIVEIRA *et al*, 2010).

A citosina apresenta susceptibilidade a várias modificações químicas fazendo que sua reatividade permita modificações enzimáticas que podem ser adaptadas para novas funções epigenéticas, mas também pode alterar a informação genética codificada e conduzir a mutações. Devido a estabilidade genética da citosina deve ser considerado a integridade epigenética.

Assim, as modificações enzimáticas na posição 5 de citosina, em geral, no contexto de dinucleótidos CpG, criam 5-metilcitosina (5mC) e suas variantes oxidadas sendo importante para a regulação epigenética (BELLACOSA e DROHAT, 2015).

Sítios CpG são metilados por uma das três enzimas chamadas DNA metiltransferase (DNMTs) (SIMMONS, 2008). A inserção de grupos metil altera a aparência e estrutura do DNA, modificando as interações do gene com a maquinaria no núcleo da célula que é necessária para a transcrição, processo geralmente visto como marca repressiva que inibe o início de transcrição quer por prevenção da ligação de certos fatores de transcrição, ou por recrutamento de proteínas metil-ligantes (Mbps), gerando DNA com cromatina compactada.

Estes padrões de metilação de DNA podem ser estavelmente propagados durante a divisão celular, o que torna um paradigma para regulação epigenética que pode mediar mudanças duradouras na expressão gênica, mesmo quando o sinal de disparo inicial desapareceu. É importante destacar que os perfis de metilação do DNA são alterados em muitas doenças. Em particular, todos os tipos de câncer apresentam tanto hipometilação ao longo do genoma quanto hipermetilação aberrante em genes supressores de tumores ou em RNAs não codificantes (AUCLAIR e WEBER, 2012).

Modificações de histonas

As histonas são proteínas nucleares que se associam ao DNA para formar a cromatina, sendo os principais componentes protéicos dela. A estrutura básica da cromatina é o nucleossomo, e seu DNA está associado a octâmeros de histonas (H2A, H2B, H3 e H4) e a uma molécula de histona H1, a qual se liga externamente ao DNA que envolve o octâmero (FERREIRA e FRANCO, 2012). As histonas agem como uma bobina em torno da qual o DNA pode se enrolar. Modificações pós-traducionais

dessas proteínas são importantes para o controle da expressão gênica, ativação do genoma, metilação do DNA e inativação do cromossomo X (SIMMONSSON e GURDON, 2004). Quando histonas são modificadas depois de serem traduzidas em proteínas, podem influenciar a forma da cromatina, que, por sua vez, pode determinar se o DNA cromossomal associado será transcrito. Se a cromatina não está em formato compacto, é ativa, e o DNA associado pode ser transcrito. Por outro lado, se a cromatina é condensada (criando um complexo chamado heterocromatina), então é inativa, e a transcrição do DNA não pode ocorrer (SIMMONS, 2008).

As caudas N-terminal das histonas estão sujeitas a uma rica variedade de modificações por ligações covalentes pós-traducionais. Essas modificações afetam a função dos cromossomos por dois mecanismos distintos. Primeiro: aproximadamente todas as modificações alteram a carga eletrostática das histonas devido à adição de grupos funcionais, formando ligações covalentes através da acetilação, fosforilação, metilação, ubiquitinação, entre outras, o que pode a princípio, mudar propriedades estruturais das histonas e ligantes do DNA. Segundo: tais modificações podem criar, estabilizar, romper ou ocluir domínios de interação na cromatina para proteínas regulatórias, como fatores de transcrição, proteínas envolvidas na condensação da cromatina e reparo do DNA. Assim, constituem a principal categoria de controle transcricional epigenético (MENDITI e KANG, 2007).

Algumas modificações estão associadas a genes ativos (acetilação), enquanto outras estão associadas tanto a genes ativos quanto a genes silenciosos (metilação). A posição das modificações também está associada às funções, por exemplo, a metilação nas lisinas 4, 36 e 79 da histona H3 (H3) está associada a genes ativos, enquanto nas lisinas 9 e 27 está associada a genes silenciosos (MENDITI e

KANG, 2007).

Modificações nas histonas desempenham papéis fundamentais na maioria dos processos biológicos que estão envolvidos na manipulação e expressão do DNA. Há uma lista cada vez maior de tais modificações e a complexidade do mecanismo de ação dessas modificações está apenas começando a ser compreendido (BANNISTER e KOUZARIDES, 2011).

Código de histonas

A hipótese de código de histonas prediz que as modificações pós-traducionais de histonas, sozinhas ou em combinação, servem para dirigir os programas de modelamento de DNA. Uma vez que tais modificações ocorrem somente em resíduos de aminoácidos de histonas específicas em vários organismos eucariotas, essas observações mostram forte envolvimento com processos nucleares. Descobertas recentes demonstram que certas modificações de histonas, como acetilação e metilação, podem bloquear ou recrutar modificações de histonas adicionais (SIMS *et al*, 2007).

Metilação de histonas

A metilação de histonas ocorre principalmente nas cadeias laterais dos aminoácidos lisina e arginina. Ao contrário do que acontece na acetilação, na metilação de histonas, não há alteração da carga da proteína histona. E ainda deve ser considerado um nível adicional de complexidade: lisinas podem ser mono-, di- ou trimetiladas; enquanto argininas podem ser mono- ou dimetiladas (sendo as dimetiladas simétricas ou assimétricas) (BANNISTER e KOUZARIDES, 2011).

A metilação de histonas não é um processo irreversível como se era pensado há alguns anos. Em 2004 foi identificada a primeira lisina desmetilase e várias outras tem sido identificadas ao longo do tempo. Tal como acontece com as lisinas metiltransferases, as desmetilases

possuem elevado nível de especificidade com o substrato alvo lisina. Além disso, são sensíveis ao grau de metilação de cada lisina, por exemplo, algumas das enzimas só são capazes de desmetilar substratos mono- ou dimetilados enquanto outras podem desmetilar todos os três estados de metilação da lisina (BANNISTER e KOUZARIDES, 2011).

Acetilação de histonas

A acetilação de histonas foi relatada pela primeira vez em 1964 e desde então, tem sido demonstrado que a acetilação de lisinas é altamente dinâmica e regulada pela ação oposta de duas famílias de enzimas: histonas acetiltransferases e histonas deacetilases. Na acetilação há a transferência de um grupo acetil ao grupo ϵ -amino de cadeias laterais de lisina, levando a neutralização da carga positiva da lisina e assim enfraquecendo as interações entre histonas e DNA.

Há dois grandes grupos de acetilases: A e B. O grupo A é uma família de enzimas mais diversificada e de modo geral modificam múltiplos sítios dentro das caudas N-terminais das histonas, devido a sua capacidade de interromper a estabilidade de interações eletrostáticas, essas enzimas funcionam como coativadores transcricionais (YANG e SETO, 2007). O grupo B é predominantemente citoplasmático (acetilando histonas livres, mas não aquelas que já se depositaram na cromatina) (PARTHUN, 2007). No entanto, não são apenas as caudas das histonas que estão envolvidos neste regulamento, existem sítios adicionais de acetilação presentes dentro do núcleo globular da histona.

Imprinting genômico

O imprinting genômico é um fenômeno controlado epigeneticamente, no qual os genomas materno e paterno se distinguem um do outro como resultado de uma metilação gameta específico

diferencial, sendo que a presença de metilação resulta em uma estrutura de cromatina mais condensada e resistente à transcrição. A teoria mais aceita para explicar o imprinting genômico é a chamada "Teoria do Conflito Genético" (HAIG e GRAHAM, 1991), proposta a partir de observações sobre a participação dos genes imprintados, relacionados aos seus efeitos antagônicos sobre o desenvolvimento do feto e da placenta. Exemplo disso é o gene paternalmente expresso, IGF2, que estimula o crescimento fetal, enquanto o gene maternalmente expresso, IGF2R, tende a diminuir o crescimento fetal (REIK e WALTER, 2001), participando da regulação do IGF2.

A formação e o desenvolvimento das células germinativas e o início da embriogênese são períodos cruciais na determinação, aquisição e manutenção do padrão de imprinting genômico, sendo a regulação dos genes imprintados essencial para o crescimento fetal e a função placentária (REIK e WALTER, 2001).

Programação e reprogramação epigenética durante o desenvolvimento embrionário

Ainda pouco se sabe como os diferentes padrões de expressão gênica inicialmente segregam no embrião em desenvolvimento ou como estas são transmitidas de maneira estável na divisão celular. Em particular, os detalhes moleculares dos mecanismos de criação de modelos que duplicam marcas epigenéticas através da replicação de DNA permanecem incertos.

Vários tipos de modificações epigenéticas contribuem para a memória mitótica, incluindo aquelas que alteram a estrutura da cromatina, modificam DNA e histonas, e remodelam nucleossomos. Coletivamente, estas modificações estabilizam os padrões de expressão gênica em tipos de células especializadas para que a identidade celular e fidelidade da linhagem sejam preservadas. No

entanto, em pelo menos duas fases do ciclo de vida dos mamíferos, a estabilidade epigenética é globalmente perturbada: quando gametas se fundem para formar o zigoto e quando os precursores de gametas (células germinativas primordiais) desenvolvem e migram no embrião. Esta reprogramação da paisagem epigenética sinaliza a reaquisição de totipotência e a formação da próxima geração de células germinativas primordiais (CANTONE e FISHER, 2013).

Oócitos e espermatozoides têm padrão epigenético completamente diferente. Além disso, a cromatina nas células espermáticas é compactada em grande parte com protaminas, e a do oócito empacotada com as proteínas histonas. Após a fecundação, os cromossomos de origem paterna descondensam e remodelam a cromatina, com substituição das protaminas por histonas maternas, ocorrendo rápida desmetilação ativa do DNA (PURI et al., 2010). O genoma materno é desmetilado mais lentamente por mecanismo passivo, após sucessivas replicações do DNA (OKAMOTO et al., 2016).

Os genomas do espermatozoide e do oócito se encontram transcricionalmente inativos e altamente metilados durante a fase pronuclear (BESTOR, 2000).

Reprogramação epigenética no embrião pré-implantação

Inicialmente, os genomas de gametas permanecem fisicamente separados no zigoto, onde passam por diferentes mudanças de cromatina sob a influência de um conjunto comum de fatores de herança materna (CANTONE e FISHER, 2013).

Logo após a fertilização, o genoma paterno troca protaminas (proteínas nucleares ricas em arginina, que substituem as histonas durante a espermatogênese) com histonas de herança materna (CANTONE e FISHER, 2013). Em camundongos, após quatro horas da

fecundação, o genoma do espermatozoide é ativamente desmetilado, enquanto o genoma do oócito é passivamente desmetilado durante as sucessivas clivagens, após o estágio de duas células até oito-16 células (SASAKI e MATSUI, 2008). Esse processo de desmetilação do genoma no início do desenvolvimento só ocorre para regiões metiladas não imprintadas. Os genes imprintados permanecem com o seu padrão de metilação advindo dos gametas, apesar do estado hipometilado em que se encontra o genoma (REIK e WALTER, 2001). Isto permite que as células obtenham pluripotência e ocorre durante a transição de uma célula (zigoto) para 16 células (estágio de mórula) (COMBES e WITHLAW, 2010).

No estágio inicial do zigoto, a aquisição do estado de cromatina hiperacetilado e hipometilado pode aumentar a acessibilidade do genoma paterno e permitir que ocorra remodelação adicional. Por outro lado, o genoma materno mantém as modificações de histonas que foram adquiridas durante o crescimento do oócito (como a metilação em Lys9 e Lys27 da histona H3), tanto no zigoto quanto durante as divisões celulares seguintes. Isto cria assimetria entre os genomas do sexo masculino e feminino, a assimetria também é aparente no nível de metilação do DNA, o que é globalmente perdido no pró-núcleo paterno, mas é retido no genoma materno. Em camundongos, a metilação de novo ocorre no estágio de blastocisto, enquanto o trofoblasto é praticamente desprovido de metilação, sugerindo um papel importante na diferenciação das linhagens celulares (SANTOS *et al*, 2002).

No estágio de blastocisto, tanto DNA quanto a histona H3K9 estão hipermetilados, com padrão menos metilado no trofoblasto. Esta pode ser a primeira assimetria relacionada ao surgimento de linhagens celulares específicas no desenvolvimento pós-

fecundação (SANTOS *et al*, 2003).

Remodelação epigenética e precursores de células germinativas

Uma segunda onda de remodelação global ocorre durante o desenvolvimento de células germinativas no embrião. PGCs são especificadas nas células do epiblasto no embrião pós-implantado – células que já foram ativadas para um destino somático (OHINATA *et al*, 2009). Reprogramação deve assegurar que os genes específicos da linhagem germinal estejam preparados e que a epigenética seja compatível com a restauração da totipotência para a próxima geração. Esta remodelação parece ser um processo de múltiplos passos e coordenado, que requer a expressão de fatores de transcrição importantes, bem como modificadores epigenéticos apropriados (WASSON *et al*, 2013).

A primeira mudança global de cromatina ocorre com a migração das células germinativas primordiais (HAJKOVA *et al*, 2008). Foi proposto que a desmetilação dependente de replicação ocorre durante o desenvolvimento precoce de PGC, enquanto que um mecanismo ativo opera numa fase posterior. Uma rápida e extensa desmetilação de DNA foi detectada quando PGCs entram nas gônadas, momento em que a maior parte das células estão na fase G2. Desmetilação completa é alcançada no décimo terceiro dia embrionário (em roedores) em corpos de genes ou regiões intergênicas, incluindo domínios imprintados e elementos repetitivos que foram anteriormente protegidos contra desgravação no zigoto; há apenas algumas exceções como dentro de regiões subteloméricas. Esta reprogramação generalizada parece ser importante para prevenir informações inapropriadas para a próxima geração. Portanto metilação do

DNA imprintada sexo-específica precisa ser reestabelecida, epimutações que podem ser acumuladas durante a vida do organismo (e podem ser prejudiciais) exigem apagamento. Esta metilação global está associada a cascata de eventos de remodelação de cromatina e subsequentemente a reativação do cromossomo X em fêmeas (CANTONE e FISHER, 2013).

No segundociclo de reprogramação, nas células germinativas primordiais, as marcas parentais são apagadas e a totipotência restaurada, iniciando o restabelecimento do imprinting genômico (REIK e WALTER, 2001). Os genes imprintados perdem suas marcas de metilação e um padrão sexo-específico começa a ser restabelecido na gametogênese.

Efeitos ambientais

A epigenética ambiental surge como reflexão sobre as constantes interações entre o ambiente, fatores endógenos, como níveis hormonais e condições imunológicas, e exógenas, como nutrição e exposição a químicos, e os mecanismos epigenéticos, como já demonstrados nesta revisão (PERERA e HERBSTMAN, 2011).

Os fatores ambientais podem alterar as marcas epigenéticas primárias, afetando não só o embrião em desenvolvimento, mas também a próxima geração de descendentes. Têm crescido as evidências sobre a herança epigenética transgeracional, demonstrando que as experiências vividas pelos pais conduzem a variação fenotípica no desenvolvimento e comportamento da prole devido à exposição da geração F1, quando embrião, e a F2, pois suas células germinativas também estarão expostas (CURLEY e MASHOODH, 2010). Visto isso, o delineamento desses efeitos ambientais transgeracionais poderá ser importante foco para pesquisas futuras.

Um exemplo documentado da importância do meio ambiente sobre a evolução de doenças com base epigenética surge a partir dos estudos de restrição alimentar na China e Holanda. Foi demonstrado que a prole masculina submetida a fome holandesa de 1994-1945 nas primeiras 10 semanas após concepção demonstrou alterações persistentes no gene imprintado IGF2 seis décadas depois (LI *et al*, 2010). Exposição pré-natal à fome foi associada a vários fenótipos metabólicos e mentais na vida adulta, incluindo maior índice de massa corporal, lipídios plasmáticos elevados e risco aumentado de esquizofrenia e possível doença cardiovascular (XU *et al*, 2009; LI *et al*, 2010;).

A exposição a fatores nutricionais, poluentes ambientais e medicamento durante a gestação pode alterar as marcas epigenéticas fetais. A ingestão de colina mostrou-se responsável por aumentar metilação de genes de regulação de cortisol, levando a melhor resposta ao estresse em crianças (JIANG *et al*, 2012). A exposição a agentes tóxicos, tais como pesticidas, componentes químicos de plásticos, dioxina, ou combustível de avião foram mostrados capazes de afetar o desenvolvimento fetal ou pós-natal em ratos, o que resulta em mudanças consistentes com a biologia de insuficiência ovariana primária e síndrome do ovário policístico em humanos (NILSSON *et al*, 2008). Algumas dessas mudanças foram transmitidas para a próxima geração (REIK; DEAN e WALTER, 2001).

A pesquisa epigenética atual se dirige a uma série de temas que contribuem para a nossa compreensão do papel dos mecanismos epigenéticos na saúde humana e doenças. Incluindo o perfil de caracterização de genes epigeneticamente instáveis que são sensíveis à desregulação do ambiente, identificando marcadores para as

ABSTRACT

Epigenetic is involved in normal cellular processes and heritable changes that do not involve sequence variations in DNA. In a multicellular organism, these changes influence the formation of cells, tissues and organs. In the development of the organism, epigenetic modifiers stabilize gene expression and ensure that DNA methylation patterns and histone modification are restored in cells after cell division. However, there are mammalian cells that naturally reprogram themselves by erasing parental marks and restoring totipotency during gametogenesis and embryogenesis. This reprogramming occurs in the gametes when they fuse to form the zygote and when primordial germ cells (precursors of gametes) develop and migrates in the embryo. From these gametes and their precursors, the epigenetic processes of development and cell differentiation can be studied.

Keywords: epigenetic marks, germ cell, histone codes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUCLAIR, G. e WEBER, M. Mechanisms of DNA methylation and demethylation in mammals. **Biochimie**, **94**(11): p. 2202-11, 2012.

BELLACOSA, A. e DROHAT, A. Role of base excision repair in maintaining the genetic and epigenetic integrity of CpG sites. **DNA repair**, **32**: 33-42, 2015.

BANNISTER, A.J. e KOUZARIDES, T. Regulation of chromatin by histone modifications. **Cell Res**, **21**(3): p. 381-95, 2011.

BESTOR, T.H. The DNA methyltransferases of mammals. **Hum Mol Genet**, **9**(16): p. 2395-402, 2000.

CANTONE, I. e FISHER A.G. Epigenetic programming and reprogramming during development. **Nat Struct Mol Biol**, **20**(3): p. 282-9, 2013.

COMBES, A.N. e WHITELOW, E. Epigenetic reprogramming: enforcer or enabler of developmental fate? **Dev Growth Differ**, **52**(6): p. 483-91, 2010.

CURLEY, J.P e MASHOODH, R. Parent-of-origin and trans-generational germline influences on behavioral development: the interacting roles of mothers fathers, and grandparents. **Dev Psychobiol**, **52**(4): p. 312-330, 2010.

DOVEY, O.M.; FOSTER, C.T.; COWLEY, S.M. Histone deacetylase 1 (HDAC1), but not HDAC2, controls embryonic stem cell differentiation. **Proc Natl Acad Sci USA**, **107**(18): p. 8242-8247, 2010.

FERREIRA, A.R. e FRANCO, M.M. Reprogramação epigenética em gametas e embriões de mamíferos. **Rev Bras Reprod Anim**, **36**(3-9), 2012.

GABAY, O. e SANCHEZ, C. Epigenetics, sirtuins and osteoarthritis, **Joint Bone Spine**, **79**(6), pp.570-573, 2012.

HAIG, D. e GRAHAM, C. Genomic imprinting and the strange case of the insulin-like growth factor II receptor. **Cell**, **64**(6): p. 1045-6, 1991.

HAJKOVA, P.; ANCELIN, K.; WALDMANN, T.; LACOSTE, N.; LANGE, U.C.; CESARI, F.; LEE, C.; ALMOUZNI, G.; SCHNEIDER, R.; SURANI, M.A. Chromatin dynamics during epigenetic reprogramming in the mouse germ line. **Nature**, **452**(7189): p. 877-81, 2008.

HARRIS, M. Reviewer's commentary on 'Transgenerational effects of prenatal exposure to the 1944-45 Dutch famine'. **BJOG**, **120**(5): p. 553-4, 2013.

HAYCOCK, P.C. Fetal alcohol spectrum disorders: the epigenetic perspective. **Biol Reprod**, **81**(4): p. 607-17, 2009.

INBAR-FEIGENBERG, M.; CHOUFANI, S.; BUTCHER, D.T.; ROIFMAN, M.; WEKSBERG, R. Basic concepts of epigenetics. **Fertil Steril**, **99**(3): p. 607-15, 2013.

JIANG, X.; YAN, J.; WEST, A.A.; PERRY, C.A.; MALYSHEVA, O.V.; DEVAPATLA, S.; PRESSMAN, E.; VERMEYLEN, F.; CAUDILL, M.A. Maternal choline intake alters the epigenetic state of fetal cortisol-regulating genes in humans. **Faseb J**, **26**: p. 3563-3574, 2012.

KAPPIL, M. A.; LI, Q.; LI, A.; DASSANAYAKE, P. S.; XIA, Y.; NANES, J. A.; LANDRIGAN, P. J.; STODGELL, C. J.; AAGAARD, K. M.; SCHADT, E. E.; DOLE, N.; VARNER, M.; MOYE, J.; KASTEN, C.; MILLER, R. K.; MA, Y.; CHEN, J.; LAMBERTINI, L. In utero exposures to environmental organic pollutants disrupt epigenetic marks linked to fetoplacental development. **Environ Epigenet**, **2**(1), p. 1-7, 2016.

LARSEN, F.; GUNDERSEN, G.; LOPEZ, R.; PRYDZ, H. CpG islands as gene markers in the human genome. **Genomics**, **13**(4): p. 1095-107, 1992.

LI, Y., HE, Y.; QI, L.; JADDOE, V.W.; FESKENS, E.J.; YANG, X.; MA, G.; HU, F.B. Exposure to the Chinese famine in early life and the risk of hyperglycemia and type 2 diabetes in adulthood. **Diabetes**, **59**(10): p. 2400-6, 2010.

MATHERS, J.C. Early nutrition: impact on epigenetics. **Forum Nutr**, **60**: p. 42-8, 2007.

MENDITI, K.B.C. e KANG, H.C. The role of histones proteins in hematological neoplasias, **Rev Bras Canc**, **53**(4): p. 453-460, 2007.

NILSSON, E.E.; ANWAY, M.D.; STANFIELD, J.; SKINNER, M.K. Transgenerational epigenetic effects of the endocrine disruptor vinclozolin on pregnancies and female adult onset disease. **Reproduction**, **135**(5): p. 713-21, 2008.

OHINATA, Y.; OHTA, H.; SHIGETA, M.; YAMANAKA, K.; WAKAYAMA, T.; SAITOU, M. A signaling principle for the specification of the germ cell lineage in mice. **Cell**, **137**(3): p. 571-84, 2009.

OLIVEIRA, N.F.P.; PLANELLO, A.C.; ANDIA, D.C.; PARDO, A.P.S. Metilação de DNA e câncer. **Rev Bras Canc**, **56**(4): p. 493-499, 2010.

OKAMOTO, Y.; YOSHIDA, N.; SUZUKI, T.; SHIMOZAWA, N.; ASAMI, M.; MATSUDA, T.; KOJIMA, N.; PERRY, A.C.F.; TAKADA, T. DNA methylation dynamics in mouse preimplantation embryos revealed by mass spectrometry. **Sci Rep**, **6**: p. 19134, 2016.

PAINTER, R.C.; DE ROOIJ, S.R.; BOSSUYT, P.M.; SIMMERS, T.A.; OSMOND, C.; BARKER, D.J.; BLEKER, O.P.; ROSEBOOM, T.J. Early onset of coronary artery disease after prenatal exposure to the Dutch famine. **Am J Clin Nutr**, **84**(2): p. 322-7; quiz 466-7, 2006.

PARTHUN, M.R. Hat1: the emerging cellular roles of a type B histone acetyltransferase. **Oncogene**, **26**(37): p. 5319-28, 2007.