



Iceland
Liechtenstein
Norway grants

Epigenetica ARN și ARN-uri non-codificatoare



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAI EGANU
CLUJ-NAPOCA



Oslo
University Hospital



GENOMICS

Epigenetica ARN și ARN-uri non-codificatoare

Editat de

Universitatea de Medicină și Farmacie” Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România -
Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină

Translațională – **Prof. Dr. Ioana Berindan-Neagoe**
Dr. Radu Pîrlog

Spitalul Universitar Oslo, Norvegia - Departamentul de Microbiologie -
Dr. Deo Prakash Pandey

Editori asistenți
Laura-Ancuța Pop
Andreea Nuțu

Drepturi de autor © 2023
ISBN:
e-ISBN:

Cuprins

1. Introducere în controlul epigenetic	6
2. Prezentare generală a moștenirii epigenetice "codificate de" proteine, ADN și ARN	11
2.1 Modificări epigenetice.....	12
2.1.1 Modificarea histonelor.....	13
2.1.2 Metilarea ADN-ului.....	14
2.1.3 Reglementarea bazată pe NcARN.....	15
2.2 Tehnologii moderne de investigare epigenetică.....	15
2.3 Modele moleculare ale moștenirii epigenetice	20
2.4 Cercetările actuale și perspectivele moștenirii epigenetice.....	23
3. Imprimarea genomică și reprogramarea epigenetică	36
3.1. Modelarea genomică - istoric	36
3.2. Reprogramarea epigenetică	38
3.3. Interacțiunea dintre modelarea genomică și reprogramarea epigenetică în cancer	38
3.3.1. Pierderea modelului (LOI).....	40
4. Influența mediului asupra controlului epigenetic	45
4.1. Factori chimici și fizici de mediu.....	46
4.2. Obiceiuri nesănătoase	60
5. Modificări reversibile ale proteinelor, ADN-ului și ARN-ului și rolul lor în cancer	81
5.1. Semnificația modificărilor reversibile în biologia cancerului	82
5.2. Modificări reversibile ale ADN-ului și rolul lor în cancer.....	84
5.2.1. Metilarea ADN-ului și dinamica demetilării în reglarea genelor canceroase.....	84
5.2.2. Modificări histonice și impactul acestora asupra structurii cromatinei și expresiei genice.....	84

5.2.3. Procese reversibile de deteriorare și reparare a ADN-ului în progresia cancerului.....	85
5.3. Modificări reversibile ale ARN-ului și rolul lor în cancer.....	86
5.3.1. Modificările ARN și efectele acestora asupra stabilității și translației ARN.....	87
5.3.2. Modificarea N6-metiladenozinei (m6A) și impactul acesteia asupra metabolismului ARN și dezvoltării cancerului.....	87
5.3.3. Modificarea N6-metiladenozinei (m6A) și rolurile sale asupra rezistenței la medicamentele împotriva cancerului.....	88
5.4. Modificări reversibile ale proteinelor și rolul lor în cancer.....	89
5.4.1. Modificări post-tranlaționale ale histonelor	89
5.4.2. Acetilarea și deacetilarea proteinelor și impactul acestora asupra expresiei genice.....	90
5.4.3. Metilarea și demetilarea histonelor și influența lor asupra structurii cromatinei și reglării genelor	90
5.4.4. Ubiquitinarea și deubiquitinarea în degradarea proteinelor și homeostazia celulară.....	91
5.5. Medicamente epigenetice	92
6. Genomul non-codificator. Mecanisme de transcriere	98
6.1. ARN-uri lungi non-codificatoare (lncARN).....	99
6.2. ARN-uri nucleolare mici (snoARN).....	101
6.3. MicroARN (miARN)	103
6.4. Alte ARN-uri non-codificatoare.....	105
6.4.1. ARN-uri asociate locului de începere a transcrierii (TSSa-ARN):.....	105
6.4.2. ARN-uri amplificatoare (eARN).....	106
6.4.3. ARN circulare (circARN).....	106
6.4.4. Traducere non-ATG asociată în mod repetat (traducere RAN).....	107
6.4.5. Transcrieri ale promotorului în amonte (PROMPTS):.....	107
6.4.6. Zgomotul de transcriere	108

6.4.7. Elemente funcționale necodate.....	108
6.4.8. Îmbinare alternativă.....	108
6.4.9. Indicii celulari și de mediu	109
6.5. Metode.....	109
7. ARN-uri lungi non-codificatoare (lncARN)	119
7.1. Informații actualizate.....	120
7.1.1. Interacțiunea dintre lncARN și metilarea ADN-ului	120
7.1.2. Alterări ale histonelor și a cromatinei	124
7.2. Metode de investigare în studiul ARN-urilor non-codificatoare	126
7.3. Direcții viitoare de cercetare	128
8. Centromeri & telomeri & Integritatea genomului	134
8.1. Importanța stabilității genomice.....	134
8.2. Rolul centromerilor și telomerilor în menținerea integrității genomului.....	136
8.3. Centromerii.....	136
8.3.1. Structura, compoziția și funcția centromerilor	136
8.3.2. Reglarea epigenetică a centromerilor.....	137
8.3.3. Anomaliile centromerilor și impactul acestora asupra integrității genomului	140
8.4. Telomeri	141
8.4.1. Structura, compoziția și localizarea telomerilor	141
8.4.2. Rolul telomerilor în stabilitatea și replicarea cromozomilor.....	142
8.4.3. Bolile asociate telomerilor și reglarea epigenetică.....	143
8.4.4. Evoluții recente în cercetarea telomerilor	144
8.5. Interacțiunea dintre centromeri, telomeri și integritatea genomului.....	145
8.5.1. Mecanisme de reparare al ADN-ului la nivelul centromerilor și telomerilor	145
8.6. Implicații terapeutice și direcții viitoare.....	146
8.6.1. Vizarea centromerilor și telomerilor în tratamentul bolilor	146

8.6.2. Abordări noi pentru studierea și manipularea centromerilor și telomerilor.....	146
9. Elemente mobile	156
9.1. Clasificarea și structura elementelor mobile.....	156
9.2. Mecanismul de transpunere a elementelor mobile.....	160
9.3. Efectele transpozozomilor asupra genomului uman și reglarea epigenetică a acestora.....	162
9.4. Dereglarea epigenetică a elementelor transpozabile în cancer.....	167
10. Genomul și ARN-ul non-codificator în aplicațiile clinice și inovațiile tehnologice.....	179
10.1. ARN-urile non-codificatoare – potențiali agenți terapeutici.....	179
10.2. Trialuri clinice curente/ microARN-uri investigate în trialuri clinice.....	180
10.3. Principalele impedimente cu privire la utilizarea clinică a microARN.....	183
10.4. Direcții viitoare în terapia bazată pe microARN.....	184

1. Introducere în controlul epigenetic

Ioana Berindan-Neagoe¹

¹Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Controlul epigenetic este un aspect important al biologiei celulare, cu un rol crucial în reglarea expresiei genelor și controlul destinului celular în timpul vieții unei celule (Allis & Jenuwein, 2016). Controlul epigenetic se referă la modificarea chimică la nivelul ADN-ului cu consecințe directe ale proteinelor codificatoare asociate. Controlul epigenetic poate influența activitatea genelor fără a modifica codul genetic (Allis & Jenuwein, 2016).

Din punct de vedere istoric, cuvântul are origini provenite din limba greacă, însemnând "deasupra", indicând că aceste modificări apar în partea superioară a secvențelor nucleotidice ADN (Deichmann, 2016). Printre caracteristicile majore ale mecanismelor epigenetice, putem sublinia ereditatea și reversibilitatea. Reversibilitatea transformării epigenetice este adesea influențată de factori endogeni și exogeni, inclusiv, dar fără a se limita la expunerile din mediu și stilul de viață Franzago, Pilenzi, Di Rado, Vitacolonna, & Stuppia, 2022).

Printre principalele mecanisme de control epigenetic, trebuie incluse următoarele: metilarea ADN-ului, modificarea histonelor și legarea ARN-urilor non-codificatoare.

În domeniul reglementării transcripției epigenetice, **metilarea ADN-ului** este recunoscută pe scară largă ca un jucător cheie, deoarece metilarea ADN-ului este un mecanism represiv stabil care mediază totodată reprimarea transcripției. Metilarea ADN-ului este catalizată de ADN metiltransferaze (DNMT). În conformitate cu interacțiunea dintre metilarea ADN-ului și alte componente ale mecanismelor care mediază aceste modificări, este posibilă coordonarea stării cromatinei prin metilarea ADN-ului (Jin, Li & Robertson, 2011).

Modificarea histonelor este un alt mecanism important legat de evenimentele epigenetice intens studiate în ultimul deceniu. Prin modificarea histonelor se reglează structura cromatinei și nivelul de expresie al genelor acționând la nivel celular. Modificările chimice ale histonelor sunt cunoscute ca jucând un rol în cancer sau patologiiile neurodegenerative și procesele fiziologice, cum ar fi îmbătrânirea. Asemeni mecanismului de metilare a ADN-ului, există dovezi că localizarea și abundența modificării histonelor sunt legate de factorii de mediu, cum ar fi dieta, care pot afecta, de asemenea, expresia genelor și durata de viață a unui individ (Molina-Serrano, Kyriakou & Kirmizis, 2019).

ARN-uri non-codificatoare. Aceste secvențe scurte sau lungi de până la 200 de nucleotide, cum ar fi microARN-urile sau ARN-urile non-codificatoare lungi, cunoscute cu mai puțin de trei decenii în urmă ca genomul “junk” sau materia întunecată, au fost evidențiate că se leagă în mod specific de regiunile de ARN-ului mesager sau ADN care reglează expresia genelor prin inhibarea translației ARN-ului mesager în proteine sau promovarea degradării ARN-ului mesager (Elhamamsy, 2017).

Toate cele de mai sus pot fi definite ca mecanisme primare de control epigenetic.

1.1. Exemple de control epigenetic

Vom urma această scurtă introducere cu câteva exemple de control epigenetic.

Amprentarea. Imprimarea este un fenomen în care genele specifice sunt exprimate într-o manieră dependentă de genele parentale. Această amprentare ca mecanism epigenetic se referă la metilarea ADN-ului și poate inhiba expresia genelor pe alelele maternelle și paternale. De exemplu, în cazul genei IGF2, alela paternă este exprimată, în timp ce alela maternă este inhibată prin mecanisme de silențiere prin metilarea ADN-ului. Acest proces este crucial pentru dezvoltarea embrionară adecvată și reglarea creșterii (Nordin, Bergman, Rochii, Engström, & Ward, 2014).

Inactivarea cromozomului X: La mamiferele femele, unul dintre cei doi cromozomi X este inactivat aleatoriu în fiecare celulă în timpul dezvoltării embrionare timpurii. Acest proces asigură că femeile au o doză egală de gene legate de X ca și bărbații. Inactivarea se realizează prin formarea corpurilor Barr și implică modificări ale histonelor și modificări ale metilării ADN-ului (Panning, 2008; Sun, Fan & Wang, 2022).

Epigenetica cancerului: În decursul dezvoltării maligne, celulele tumorale sunt printre cele mai heterogene din punct de vedere genomic. Această heterogenitate se poate datora, printre alte mecanisme caracteristice, diferitelor modificări epigenetice care apar frecvent în celulele tumorale. De exemplu, în genele supresoare tumorale, regiunile promotoare pot deveni hipermetilate, ducând la reducerea lor prin mecanisme de silențiere, formarea tumorilor și colonizarea țesuturilor normale. În cazul oncogenelor, mecanismul epigenetic este hipometilarea sau modificările histonelor care promovează creșterea și diviziunea necontrolată a celulelor (Baylin & Jones, 2016).

Recent, o varietate de epi-medicamente au fost dezvoltate și sunt testate pentru eficacitatea lor potențială în aplicații clinice. În plus față de efectele lor anti-tumorale, epi-medicamentele au arătat, de asemenea, rezultate convingătoare în combinație cu chimioterapia sau imunoterapia, inclusiv în potențarea efectelor antitumorale, capacitatea de a reconverti rezistența la medicamente și activarea

sistemului imunitar al pacientului, indiferent dacă este utilizat singur sau în combinație cu chimioterapie sau imunoterapie (Lu et al., 2020).

Diferențierea dezvoltării. În timpul dezvoltării embrionare, celulele suferă diverse procese de diferențiere pentru a deveni celule specializate, cum ar fi neuronii sau celulele musculare. Mecanismele epigenetice sunt cruciale în reglarea expresiei genice specifice care definește identitatea celulară. De exemplu, celulele stem neuronale schimbă modelele de metilare a ADN-ului și modificările histonelor pentru a deveni neuroni diferențiați sau celule gliale (Atlasi, 2017).

Epigenetica și expunerile la mediu. Moștenirea genomului nostru poate fi afectată de expunerea pe parcursul vieții la diferiți factori de stres și de mediu, inclusiv poluanți, toxine, substanțe chimice și dietă, cu efecte potențiale și modificări la nivelul epigenomului. Unele dintre aceste efecte ale expunerii mediului pot fi moștenite de-a lungul generațiilor și pot aminti aceste efecte în ADN-ul liniei germinale (Breton et al., 2021).

Terapia epigenetică. Modificările epigenetice sunt reversibile, făcându-le ținte potențiale pentru intervenții terapeutice. Medicamente care vizează mecanismele epigenetice specifice, cum ar fi ADN-metiltransferazele sau histon-deacetilazele, au fost dezvoltate pentru a modifica modelele epigenetice aberante în celulele tumorale. Aceste medicamente, cunoscute sub numele de terapii epigenetice, au scopul de a restabili modelele normale de expresie al genelor și de a împiedica creșterea tumorii (Lu et al., 2020).

Aceste exemple ilustrează diversitatea și semnificația controlului epigenetic în diferite procese biologice, de la dezvoltarea normală până la patogeneza bolii. Cercetarea epigenetică continuă să arunce lumină asupra modului în care aceste mecanisme influențează expresia genelor și comportamentul celular, oferind perspective asupra sănătății, bolilor și căilor potențiale de intervenție terapeutică (Pruitt, 2016).

Modificările epigenetice sunt critice în timpul dezvoltării embrionare, în etapele de diferențiere pentru a deveni tipuri specifice de celule cu funcții specializate. În plus, modificările epigenetice joacă un rol crucial în expresia genelor specifice țesutului, menținerea identității celulare și răspunsul la stimulii de mediu.

Foarte important, modificările normale ale mecanismelor de control epigenetic pot duce la diferite boli, inclusiv cancer, tulburări neurodegenerative și afecțiuni metabolice. Înțelegerea reglementării epigenetice a deschis noi căi pentru cercetare și potențiale intervenții terapeutice, cum ar fi medicamentele epigenetice care vizează modele epigenetice anormale în boli (Allis & Jenuwein, 2016; Pruitt, 2016).

În concluzie, controlul epigenetic este un domeniu prioritar de studiu care aruncă o nouă lumină asupra modului în care factorii externi și procesele intra-celulare

pot influența expresia genelor și pot influența funcționarea celulelor și organismelor. Controlul epigenetic prezintă implicații semnificative pentru sănătatea umană, dezvoltare și apariția unor multiple patologii, făcându-l un domeniu critic de cercetare în medicina modernă.

Bibliografie

- Allis, C. D., & Jenuwein, T. (2016). The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nature Reviews. Genetics*, *17*(8), 487-500. doi:10.1038/nrg.2016.59
- Atlasi, Y., Stunnenberg, H. (2017). The interplay of epigenetic marks during stem cell differentiation and development. *Nat Rev Genet* *18*, 643–658.
- Baylin, S. B., & Jones, P. A. (2016). Epigenetic Determinants of Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, *8*(9). doi:10.1101/cshperspect.a019505
- Breton, C. V., Landon, R., Kahn, L. G., Enlow, M. B., Peterson, A. K., Bastain, T., . . . Fry, R. (2021). Exploring the evidence for epigenetic regulation of environmental influences on child health across generations. *Commun Biol*, *4*(1), 769. doi:10.1038/s42003-021-02316-6
- Deichmann, U. (2016). Epigenetics: The origins and evolution of a fashionable topic. *Dev Biol*, *416*(1), 249-254. doi:10.1016/j.ydbio.2016.06.005
- Elhamamsy, A. R. (2017). Role of DNA methylation in imprinting disorders: an updated review. *J Assist Reprod Genet*, *34*(5), 549-562. doi:10.1007/s10815-017-0895-5
- Franzago, M., Pilenzi, L., Di Rado, S., Vitacolonna, E., & Stuppia, L. (2022). The epigenetic aging, obesity, and lifestyle. *Front Cell Dev Biol*, *10*, 985274. doi:10.3389/fcell.2022.985274
- Jin, B., Li, Y., & Robertson, K. D. (2011). DNA methylation: superior or subordinate in the epigenetic hierarchy? *Genes Cancer*, *2*(6), 607-617. doi:10.1177/1947601910393957
- Lu, Y., Chan, Y. T., Tan, H. Y., Li, S., Wang, N., & Feng, Y. (2020). Epigenetic regulation in human cancer: the potential role of epi-drug in cancer therapy. *Mol Cancer*, *19*(1), 79. doi:10.1186/s12943-020-01197-3
- Molina-Serrano, D., Kyriakou, D., & Kirmizis, A. (2019). Histone Modifications as an Intersection Between Diet and Longevity. *Front Genet*, *10*, 192. doi:10.3389/fgene.2019.00192
- Nordin, M., Bergman, D., Halje, M., Engström, W., & Ward, A. (2014). Epigenetic regulation of the Igf2/H19 gene cluster. *Cell Prolif*, *47*(3), 189-199. doi:10.1111/cpr.12106
- Panning, B. (2008). X-chromosome inactivation: the molecular basis of silencing. *J Biol*, *78*(1), 30. doi:10.1186/jbiol95

- Pruitt, K. (2016). Molecular and Cellular Changes During Cancer Progression Resulting From Genetic and Epigenetic Alterations. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 144, 3-47. doi:10.1016/bs.pmbts.2016.09.001
- Sun, Z., Fan, J., & Wang, Y. (2022). X-Chromosome Inactivation and Related Diseases. *Genet Res (Camb)*, 2022, 1391807. doi:10.1155/2022/1391807

2. Prezentare generală a moștenirii epigenetice "codificate de" proteine, ADN și ARN

Paul Chiroi¹

¹Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Introducere

Dezvoltarea filogenetică umană (adică determinanții genetici) și ontogenetică (adică factorii de mediu) au fost cunoscute drept mecanismele primare ce stau la baza influențelor parentale asupra evoluției descendenților. Cu toate acestea, atunci când transferul inter-generațional al modificărilor epigenetice a fost în cele din urmă demonstrat, teoriile filogenetice și ontogenetice s-au comasat formând o nouă intersecție nouă: moștenirea epigenetică (Lacal & Ventura, 2018). Viața pe Pământ se bazează pe informațiile genetice care sunt scrise în secvența ADN, oferindu-ne o înțelegere trasabilă atât a fenotipurilor normale, cât și a bolilor. Cu toate acestea, pentru a utiliza aceste informații, este necesar un anumit nivel de reglementare, iar studiul acestor semnale modulatorie se numește epigenetică (Fitz-James & Cavalli, 2022).

Epigenetica studiază repertoriul larg de modificări ereditare, dar stabile, ale expresiei genelor, care nu sunt cauzate de modificări reale ale secvenței ADN (Peschansky & Wahlestedt, 2014). Astfel, mecanismele epigenetice oferă, la nivel celular, un grad nedetectabil de modulare a expresiei genelor care favorizează șansele organismului de a se adapta într-un mediu dinamic. Acești regulatori modifică aditiv sau sinergic structura cromatinei, organizarea nucleară și stabilitatea transcrierii, sporind complexitatea funcțională a ADN-ului, care are consecințe moleculare diferite ce vor defini în cele din urmă fenotipul unui individ (Berger et al., 2009; Stephens et al., 2013). Ca atare, acest nivel adaptiv de reglare este influențat de starea de sănătate, stadiul de dezvoltare, tipul de țesut și expunerea la diferiți factori de mediu (De Bustos et al., 2009, p. 1; Mikkelsen et al., 2007; Ober & Vercelli, 2011).

La nivel celular, mecanismele epigenetice asigură o reglare fină a expresiei genelor care apare în principal în suprastructura cromozomială, mai degrabă decât în secvența ADN (Al Aboud et al., 2023; Berger et al., 2009). Acest repertoriu subtil de schimbări este stabilit și susținut în timpul diviziunilor celulare multiple, rezultând un set special, specific tipului celular, de funcții cruciale pentru dezvoltarea țesuturilor și organelor (Basu & Tiwari, 2021; John & Rougeulle, 2018). Trei mecanisme epigenetice principale au fost identificate și studiate până în prezent: metilarea ADN-ului,

modificarea histonelor și reglarea asociată ARN non-codant (ncARN) (Gibney & Nolan, 2010).

În ultimul timp, tot mai multe dovezi indică moștenirea multi-generațională a acestor relicve non-genetice, cunoscute sub numele de epimutații, deoarece acestea ar putea influența în continuare expresia genelor și funcția celulară, contribuind la diversitatea fenotipică ereditară, sănătate și boală. (Fitz-James & Cavalli, 2022; Heard & Martienssen, 2014). Cu toate acestea, atunci când se studiază transmiterea acestor semnale de reglementare nedetectabile, este important să se facă o distincție clară între transferul "inter-generațional", atunci când semnalele epigenetice sunt partajate, dar pierdute după prima generație, și moștenirea epigenetică "trans-generațională" (TEI), când semnalul epigenetic este menținut de-a lungul generațiilor chiar și în absența stimulului, indiferent de natura acestuia (Heard & Martienssen, 2014; Pang et al., 2017; van Otterdijk & Michels, 2016). În prezent, există două modele moleculare primare cunoscute pentru a asigura livrarea trans-generațională a purtătorilor epigenetici: transmisia directă (replicativă), prin care semnalele de reglementare sunt transferate prin meioză (transmisie pe termen scurt) și menținute în timpul diviziunilor mitotice (transmisie pe termen lung); transmitere indirectă (reconstructivă), atunci când semnele epigenetice primare sunt șterse, dar reconstruite în generațiile următoare pe baza unui semnal secundar (Miska & Ferguson-Smith, 2016; Saze, 2008).

Prezentul capitol va aborda principalele componente ale moștenirii epigenetice, oferind un nivel de bază de cunoștințe privind purtătorii epigenetici și modelele lor de transmitere. Acest capitol va acoperi, de asemenea, metodele actuale de investigare, cele mai recente *cercetări in vitro/vivo*, studiile clinice în curs de desfășurare și o prezentare generală a perspectivelor în domeniu.

2.1 Modificări epigenetice

Datorită tuturor descoperirilor științifice și tehnologice din ultimul deceniu, cartografierea relicvelor epigenetice, cum ar fi modificările histonelor, metilarea ADN-ului și reglarea bazată pe ncARN au devenit mai accesibile. La rândul lor, oamenii de știință au început să investigheze modelele moleculare care guvernează moștenirea acestor informații non-genetice, dar și modul în care diferite aberații din trăsăturile epigenetice sunt implicate atât stările fiziologice, cât și în patologice (Esteller, 2008).

Înainte de aborda mai în profunzime modelele de moștenire epigenetică, este important să facem o distincție clară între diferitele modificări epigenetice (Fig. 1) care sunt cunoscute și documentate în prezent. Astfel, explicația lor scurtă, dar concisă, este furnizată în continuare.

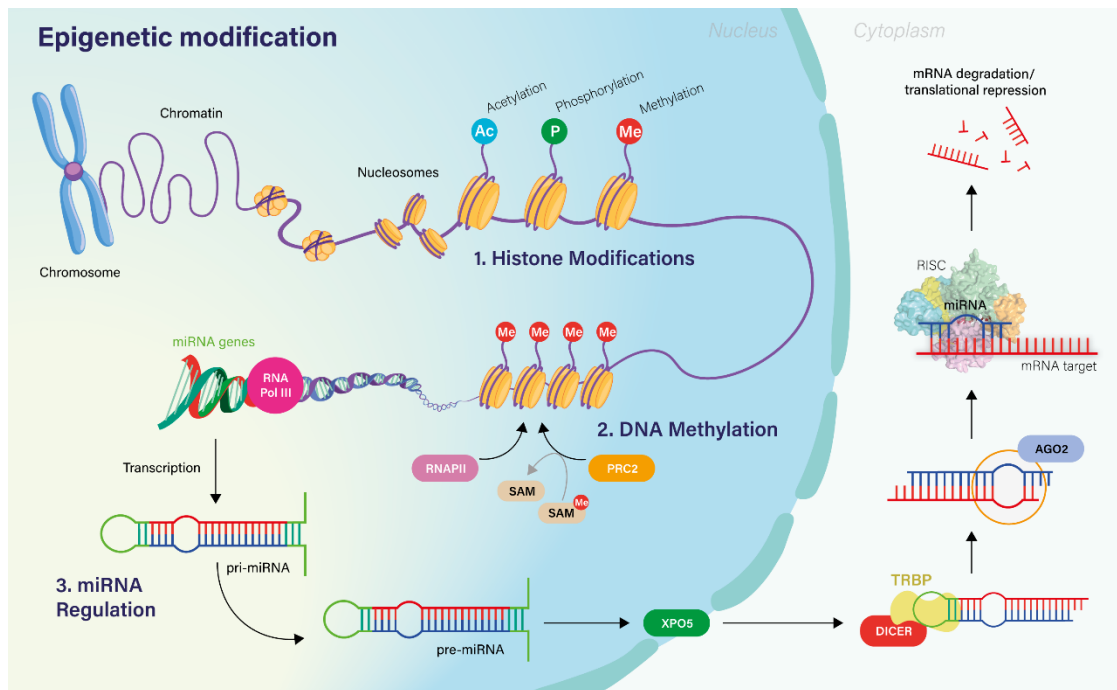


Figura 1. Modificări epigenetice implicate în reglarea expresiei genelor.

1. Modificarea histonelor; 2. Metilarea ADN-ului; 3. Reglarea prin intermediul miARN.

2.1.1 Modificarea histonelor

Deși ar putea părea o structură inertă, în special pentru rolul său în ambalarea ADN-ului, cromatina joacă un rol regulator și în expresia genelor. Prin urmare, ca răspuns la interacțiunea sa cu diferiți factori externi, histonele suferă o serie de modificări post-tranlaționale (acetilare, metilare, fosforilare) (Fig. 1.1) care îi modifică interacțiunea cu ADN-ul și ajută la modularea multor procese biologice asociate atât cu stările fiziologice, cât și patologice. Ca atare, trebuie menținută o reglare fină între aceste modificări epigenetice pentru a păstra structura cromatinei, reglarea adecvată a expresiei genelor și controlul rezultatului biologic (Zhao & Shilatifard, 2019).

Acetilarea histonelor

Identificată în 1964 de Allfrey, Faulkner și Mirsky (Allfrey et al., 1964), acetilarea este o schimbare labilă în structura grupării ϵ -amino a reziduurilor de lizină controlate de două familii de enzime, histon-acetiltransferaze și deacetilaze (Legube & Trouche, 2003). Cu acetyl CoA drept cofactor, aceste enzime (relaxarea cromatinei, promotorii transcripționali) catalizează transferul unei grupări acetyl în situsul ϵ -amino al lanțurilor de lizină, neutralizând astfel sarcina sa pozitivă care slăbește interacțiunile dintre histone și ADN. Între timp, histon-deacetilazele (condensarea cromatinei, repressoare

transcripționale) inversează acetilarea lizinei, restabilind sarcina pozitivă care stabilizează arhitectura locală a cromatinei (Bannister & Kouzarides, 2011).

Fosforilarea histonelor

Fosforilarea are loc de obicei la nivelul serinei, treoninei și tirozinei care se află în regiunile N-terminale ale lanțurilor laterale aferente aminoacizilor din histone. Aici, kinazele adaugă fosfat derivat din ATP la grupările hidroxil ale acestor aminoacizi. Prin urmare, o sarcină negativă este încărcată pe histone, care influențează structura cromatinei, jucând în continuare un rol într-o varietate de procese celulare, inclusiv reglarea transcripțională, apoptoza celulară, ciclul celular, repararea daunelor ADN-ului și reglarea genelor implicate în dezvoltarea organismului (Banerjee & Chakravarti, 2011; Rossetto et al., 2012).

Metilarea histonelor

Un semn epigenetic mai subtil, deoarece nu afectează sarcina electrică a proteinelor, metilarea histonelor are loc în principal în lanțurile laterale ale lizinelor (mono-, di- sau tri-metilare) și argininilor (mono- și (a) di-metilare simetrică). Acest proces se realizează cu ajutorul lizin-/argini-metiltransferazei care transferă o grupare metil de la S-adenozilmetionină fie la gruparea ϵ -amino a lizinei de lizină, fie la gruparea ω -guanidino a argininei (Greer & Shi, 2012).

2.1.2 Metilarea ADN-ului

Metilarea ADN-ului (Fig. 1.2) este un semnal epigenetic ereditar în care ADN-metiltransferazele transportă covalent o grupare metil în poziția C-5 a inelului de citozină ADN (Lister et al., 2009; Moore et al., 2013). În celulele somatice, cea mai mare parte a metilării ADN-ului (98%) are loc în citozinele care preced guanina, numite și situsuri CpG, în timp ce în celulele stem embrionare, 25% din aceasta are loc într-un context non-CpG, dar se pierde în principal în țesuturile mature (Berdasco & Esteller, 2011; Isagawa et al., 2011). De obicei, aceste semne epigenetice sunt îndepărtate în timpul dezvoltării zigotului și ulterior restaurate în embrion în jurul momentului implantării (Zhu, 2009). Acest strat epigenetic comun de reglare este implicat în multe procese biologice esențiale pentru dezvoltarea normală, cum ar fi imprimarea genomică, inactivarea cromozomului X sau suprimarea transcripției / transpunerii elementelor repetitive. Când este dereglat, joacă un rol în multe boli umane, inclusiv cancerul (Gopalakrishnan et al., 2008; Joseph et al., 2018).

2.1.3 Reglementarea bazată pe NcARN

MicroARN-urile (miARN) sunt mici ncARN-uri (18 până la 25 nucleotide în lungime) recunoscute ca fiind unii dintre principalii contribuitoari în post-trancripțională a genelor. Prin urmare, fără nicio dovadă scrisă a implicării ADN-ului, miARN-urile sunt acum considerate modulatori epigenetici, afectând nivelurile proteice ale ARNm țintă, fiind astfel implicați în multe procese biologice. Mai mult, se pare că nivelul de expresie al miARN poate fi modulat de modificările epigenetice menționate mai sus într-o buclă de feedback miARN-epigenetic (Chuang & Jones, 2007; Yao et al., 2019).

Aceste efecte de reglare reciprocă au o influență extinsă asupra expresiei genelor, iar dereglarea acestei bucle de feedback interferează cu procesele fiziologice, contribuind la o varietate de boli, inclusiv cancerul (Pajares et al., 2021; Rong et al., 2021).

Biogeneza miARN (Fig. 1.3) este un proces în mai multe etape care începe în nucleeele celulare. Aici, ARN polimeraza II transcrie transcripții primari ai miARN (pri-miARN), acoperind capetele 5' ale pri-miARN-urilor, în timp ce capetele 3' sunt poliadenilate. Apoi, enzima nucleară Drosha taie pri-miARN-urile în 70-100 precursori nucleotidici structurați în ac de păr (pre-miARN), care sunt exportati în continuare în citoplasmă cu ajutorul proteinei transmembranare XPO5. În acest moment, pre-miARN-urile sunt scindate de o endoribonuclează numită Dicer în pre-miARN dublu catenar. În continuare, proteina AGO2 relaxează pre-miARN și doar unul rămâne să servească în continuare ca ghid pentru direcționarea ARNm. În cele din urmă, secvențele mature de miARN sunt gata să se lege de țintele ARNm în cadrul complexelor de silencing induse de ARN (RISC) care reglează degradarea sau reprimarea translațională a acestora, fiind implicate atât în sănătate, cât și în boală (Ha & Kim, 2014; Khan et al., 2019).

2.2 Tehnologii moderne de investigare epigenetică

Sincronizarea dintre progresele tehnologice și descoperirile epigenetice a pus bazele extinderii semnificative a instrumentelor de investigație noi, de ultimă oră. Astfel, de la analiza specifică locusului până la secvențierea la nivelul genomului, oamenii de știință sunt acum pregătiți corespunzător pentru a detecta stările cromatinei la diferite dimensiuni. Ca atare, anticorpii de înaltă calitate, testele funcționale de cromatină, instrumentele de imagistică, tehnologiile de secvențiere cu randament ridicat și analizele bioinformatică integrate sunt utilizate în prezent pentru a investiga semnele epigenetice pe măsură ce începem să înțelegem modelele lor de moștenire și importanța lor în dezvoltarea umană (Li, 2021).

Tabelul 1 oferă o comparație specifică mărcii epigenetice între tehnologiile de investigare disponibile în prezent, subliniind punctele forte și punctele slabe ale acestora.

Tabelul 1. Prezentare comparativă a principalelor tehnologii de investigare epigenetică

Tehnologie	Context	Punctele forte	Slăbiciuni	Ref
Modificări ale histonelor				
Spectrometrie de masă	Studii clinice	<ul style="list-style-type: none"> - Multiplex și randament ridicat - Cuantificarea exactă a PTM-urilor histonelor globale* - Potrivit pentru descoperirea tiparelor de modificare necunoscute 	<ul style="list-style-type: none"> - Tehnică laborioasă, lungă și în mai multe etape - Mai puțin sensibilă decât metodele pe bază de anticorpi - Analiza proteinelor intacte este încă o provocare - Analiza datelor necesită o expertiză ridicată - Se recomandă validarea rezultatelor prin metode bazate pe anticorpi 	(Önder et al., 2015)
ChIP*-PCR	Studii de validare	<ul style="list-style-type: none"> - Detectează diferite modificări specifice histonei - Evaluează capacitatea de legare a factorilor de reglementare la regiunile cromatinei - Rentabile 	<ul style="list-style-type: none"> - Detectează numai abundența îmbogățirii - Nu este pregătit pentru rezoluția unui singur nucleotid 	(Gade & Kalvakolanu, 2012; Milne et al., 2009)
ChIP-cip	Studii exploratorii	<ul style="list-style-type: none"> - Detectează modificările globale ale histonelor - Design de acoperire personalizat - Rentabile 	<ul style="list-style-type: none"> - Supus artefactelor microarray - Rezultatele se bazează pe calitatea anticorpilor 	(Canton et al., 2022; Pillai & Chellappan, 2009)
ChIP-seq	Studii	<ul style="list-style-type: none"> - Cea mai 	<ul style="list-style-type: none"> - Rezultatele se 	(Furey, 2012;

	exploratorii	cuprinzătoare metodă pentru analiza globală a modificării histonelor - Tehnologie de rezoluție cu o singură bază pregătită	bazează foarte mult pe calitatea anticorpilor - Tehnică scumpa	O'Geen et al., 2011)
ELISA*	Studii de predicție	- Utilizează kituri comerciale care vizează modele specifice de modificare a histonelor - Rentabile	- Nu este proiectat pentru estimări precise ale stării modificărilor histonelor - Rezultate inconsecvente - Nesigură ca tehnică unică de predicție	("Testul imunosorbant legat de enzime (ELISA)", 1976)
Microscară NU*-ELISA	Studii exploratorii	- Util pentru culturi celulare reduse (de exemplu, un godeu al unei plăci cu 6/24/96 godeuri) - Detectarea cantitativă rapidă și eficientă a acetilării histonei globale - Poate fi folosit pentru a cuantifica diferite modificări ale histonei	- Necesită anticorpi calitativi și o bună expertiză de laborator	(Dai et al., 2013)

Metilarea ADN-ului

Secvențierea bisulfidului pe bază de PCR*	Cel mai bine atunci când gena candidată sau / și regiunea țintă sunt cunoscute	- Detectează toate site-urile CpG* din produsele PCR - Rezoluție cu o singură bază - Rentabile	- Rezultate inconsecvente după tratamentul cu bisulfid care provoacă deteriorarea ADN-ului - Replicarea este necesară pentru a confirma rezultatele	(Li & Tollefsbol, 2011)
MSP*	Cel mai bine atunci	- Rezoluție cu o singură bază	- Detecție cu raza redusă de acțiune	(Derks et al., 2004)

	când gena candidată sau / și regiunea țintă sunt cunoscute	- Rentabile	- Randament redus	
Pirosecvențierea	Cel mai bine atunci când gena candidată sau / și regiunea țintă sunt cunoscute	- Rezoluție cantitativă și precisă ridicată - Rezoluție cu o singură bază -Rentabile	- Rezultate inconsecvente după tratamentul cu bisulfite care provoacă deteriorarea ADN-ului - Necesită un set validat de amorse	(Delaney et al., 2015)
WGBS*	Studii exploratorii	- Cea mai cuprinzătoare metodă de evaluare a stării globale de metilare a ADN-ului - Rezoluție cu o singură bază	- Necesită cantități mari de ADN de intrare pentru a funcționa - Este necesară o analiză bioinformatică extensivă - Scump	(Kernaleguen et al., 2018)
RRBS*	Studii exploratorii	- Acoperă majoritatea insulelor CpG din regiunile de reglare a genelor - Utilizarea mai multor specii - Rezoluție cu o singură bază - Rentabile	- Acoperă 1-3% din genom - Acoperire inconsecventă	(Meissner et al., 2005)
ELISA	Predicția metilării globale a ADN-ului	- Ușor de utilizat, kituri comerciale disponibile (5mC) -Rentabile	- Nu este conceput pentru analiza precisă a metilării globale a ADN-ului - Rezultate inconsecvente	(Kurdiukov & Bullock, 2016)
OxBS-seq*	Studii exploratorii	- Cea mai frecvent utilizată tehnică pentru	- Intrare ADN mare - Tratamentul cu	(Booth et al., 2013)

		5hmC global	bisulfit provoacă deteriorarea ADN-ului	
Secvențierea nanoporilor	Studii exploratorii	<ul style="list-style-type: none"> - Secvențierea cu o singură moleculă a ADN-ului nativ - Fără tratament cu bisulfit - Se aplică la toate speciile 	<ul style="list-style-type: none"> - Intrare ADN mare - Analiza complexa a datelor 	(Gouil & Keniry, 2019)

Reglarea prin intermediul ncARN

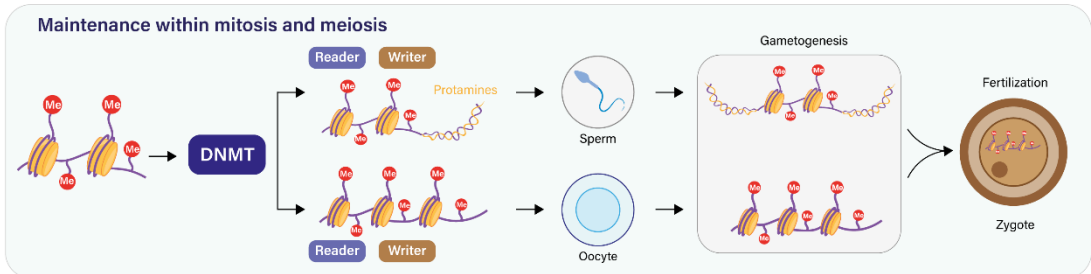
qRT-PCR*	Studii de validare	<ul style="list-style-type: none"> - Detectează majoritatea NcARN - Kituri comerciale disponibile pentru diferite cazuri de utilizare - Sensibilitate ridicată -Rentabile 	<ul style="list-style-type: none"> - Funcționează cel mai bine numai cu grunduri validate - Necesită adnotare de calitate 	(Kolenda et al., 2019; Uchida și Bolli, 2018; Varkonyi-Gasic et al., 2007)
TT-qRT-PCR*	Studii exploratorii	<ul style="list-style-type: none"> - Detectează majoritatea miARN-urilor - Kituri comerciale disponibile - Foarte sensibil și specific -Rentabile 	<ul style="list-style-type: none"> - Nu este utilizat în mod obișnuit pentru studiile de epigenetică - Utilizat în prezent numai pentru analiza expresiei miARN - Tehnică relativ nouă, necesită o validare extinsă 	(Androvic et al., 2017)
ARN-Seq	Studii exploratorii	<ul style="list-style-type: none"> - Analiza întregului genom - Rezoluție cu o singură bază 	<ul style="list-style-type: none"> - Mai puțin sensibil - Materiale de intrare mari - Analiza bioinformatică complexă necesară 	(Cao et al., 2019)

***Abrevieri:** PTM - modificare posttranslațională; ChIP-PCR - cromatină Reacția în lanț a imunoprecipitării polimerazei; NU-ELISA - test imunisorbant legat de enzime nucleozomiale; MSP - reacție în lanț a polimerazei specifice metilării; WGBS - secvențierea bisulfidului întregului genom; OxBS-seq - secvențiere oxidativă a bisulfidului; qRT-PCR - reacție cantitativă în lanț a polimerazei în timp real; TT-qRT-PCR - două reacții cantitative cantitative în lanț ale polimerazei în timp real.

2.3 Modele moleculare ale moștenirii epigenetice

Modificările epigenetice pot apărea sporadic sau ca urmare a expunerii la stimuli de mediu. Această modificare devine un semn epigenetic ereditar dacă este transmisă generației următoare. În acest sens, termenul "inter-generațional" se referă la moștenirea în descendenții imediați ai individului care a exprimat pentru prima dată schimbarea epigenetică, în timp ce, în anumite situații, semnalul este menținut prin generațiile ulterioare și dincolo de acestea, chiar și în absența stimulului inițial, proces cunoscut sub numele de TEI. Astfel, pe măsură ce un număr tot mai mare de investigații corelaționale, alimentate de cele mai noi progrese tehnologice, identifică prezența componentelor epigenetice în diferite trăsături moștenite de-a lungul generațiilor, au apărut trei modele moleculare distincte de moștenire (Fitz-James & Cavalli, 2022).

A. REPLICATIVE INHERITANCE



B. RECONSTRUCTIVE INHERITANCE

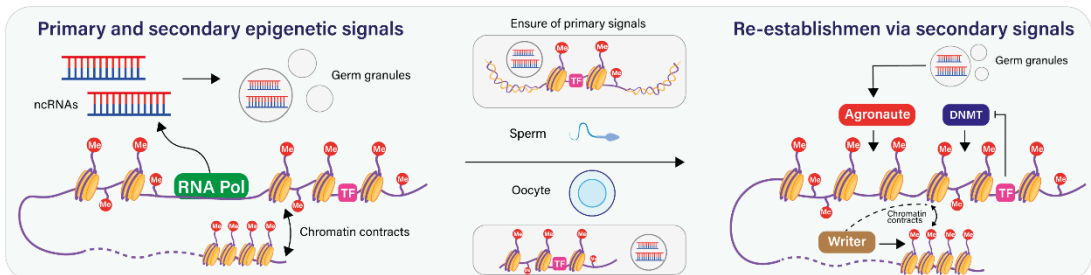


Figura 2. Modele moleculare ale moștenirii epigenetice: A. Moștenire replicativă; B. Moștenirea reconstructivă.

Transmisie replicativă

Cele mai frecvent menționate trăsături "epigenetice" sunt metilarea ADN-ului și modificările histonelor, deoarece acestea sunt semnale semnificative de reglementare care pot fi transmise cu fidelitate prin mitoză. Procedurile prin care semnalele epigenetice sunt transmise prin mitoză sunt extinse la meioză în modelele

de moștenire replicativă. Astfel, enzima DNMT1 recunoaște ADN-ul hemimetilat și metilează citozinele nemetilate. După furca de replicare, histonele modificate sunt distribuite uniform pe firele fiice, iar marca este restabilită prin cuplarea cititor-scriitor. Aceste semnale sunt apoi păstrate de-a lungul gametogenezei și fertilizării, supraviețuind oricăror etape potențiale de reprogramare, precum și înlocuirii histonelor din nucleeele spermatozoizilor cu protamine. Markerii epigenetici sunt astfel preluați direct de la generația anterioară în zigot (Escobar et al., 2019; Petryk et al., 2018; Reverón-Gómez et al., 2018). O explicație ilustrativă a transmiterii replicative a semnelor epigenetice este prezentată în Figura 2.

Transmisie reconstructivă

Din cauza provocărilor reprezentate de reprogramarea pe scară largă la animale, transmiterea directă, ca și în mitoză, este puțin probabil să fie modul dominant de ereditate. Semnalele epigenetice primare sunt moștenite în ciuda ștergerii lor în modelele de moștenire reconstructivă prin recapitularea lor din semnalele secundare. ncARN, contactele 3D cu cromatină și legarea factorului de transcripție (TF) sunt exemple de semnale secundare. Marcajele epigenetice, cum ar fi metilarea ADN-ului sau modificările histonelor, se pierd în timpul gametogenezei sau al dezvoltării embrionare timpurii, dar pot fi reconstruite fidel folosind informațiile conținute de aceste semnale secundare, care sunt moștenite direct (Kremsky & Corces, 2020; Seisenberger et al., 2012; Wang et al., 2014). O explicație ilustrativă a transmiterii reconstructive a semnelor epigenetice este, de asemenea, furnizată în Figura 2.

Paramutații

Deoarece informațiile epigenetice pot fi adăugate sau eliminate independent de modificările secvenței ADN subiacente și deoarece aceste modificări epigenetice ar putea fi apoi transmise generațiilor următoare, posibilitatea unor mecanisme de moștenire non-mendeliene este deschisă semnelor epigenetice. Paramutația reprezintă transmiterea orizontală a informațiilor epigenetice (de obicei modificări histonice și metilarea ADN-ului, în trans) de la o alelă la perechea sa pe cromozomul soră. Ulterior, mecanismele TEI transferă "epialele" paramutate vertical între generații. Astfel, atunci când aceste procese sunt combinate, ele formează un rol-cheie în transmiterea unei epialele printr-o populație (Hollick, 2017; Suter & Martin, 2010). Paramutațiile au fost identificate pentru prima dată la plante (Pilu, 2015), dar au fost documentate și în *C. elegans* (siARN terțiar mediază paramutația în *C. elegans* - PubMed, *n.d.*), *D. melanogaster* (de Vanssay et al., 2012) și șoareci (Chandler, 2007; Pilu, 2011). Cu toate acestea, sunt necesare studii ample pentru a înțelege mai bine aceste procese la om.

Expunerea ancestrală și directă la toxinele din mediu, precum și schimbarea nutriției, au fost asociate unui risc crescut de obezitate și dereglare metabolică. Factorii de stres din mediu pot remodela epigenomul liniei germinale (spermatozoizi și ovule), care transmite susceptibilitatea la boli generațiilor viitoare prin moștenirea trans-generațională epigenetică. O listă cu unii dintre factorii externi care cauzează modificări epigenetice ereditare este prezentată în Tabelul 2.

Tabelul 2. Factorii de mediu care induc epimutații moștenite transgeneraționale

Factor	Predispoziție epigenetică moștenită	Model de studiu	Ref
Vinclozolin	Testicule, prostată și boli de rinichi, infertilitate masculină, tulburări imune, cancer	Șoareci, șobolani	(Anway et al., 2005; E. Nilsson et al., 2018; Skinner, 2008)
Metoxiclor	Boli de rinichi și ovare, obezitate, infertilitate	Șobolani	(Anway et al., 2005; Manikkam et al., 2014)
Permetrin/DEET*	Disfuncții pubertale, testicule și boli ovariene	Șobolani	(Manikkam et al., 2012b)
Dioxină	Boli de prostată, ovare, rinichi, ureter sau testicule, risc crescut de naștere prematură	Șoareci, șobolani	(Bruner-Tran et al. 2014; Manikkam et al., 2012a; Sanabria et al., 2016)
Ftalați	Anomalii pubertare, testicule, obezitate și boli ovariene	Șobolani	(Manikkam et al., 2013)
BPA*	Tulburări cardiovasculare, fertilitate redusă, modificări ale comportamentului social	Șoareci, vertebre acvatice	(Bhandari et al., 2015; Lombó et al., 2015; Wolstenholme et al., 2012)
Amestec de hidrocarburi	Boala ovariană, obezitatea	Șobolani	(Tracey et al., 2013)
DDT*	Obezitatea, testiculele și bolile renale	Șobolani	(Tracey et al., 2013)
Benzo[a]piren	Modificări comportamentale, infertilitate, IMC ridicat	Șoareci, vertebre acvatice	(Knecht et al., 2017; Mohamed et al., 2010)
Tributilstaniu	Obezitate	Șoareci umani	(Chamorro-García et al., 2013; Grün & Blumberg, 2006)
Glifosat	Obezitate, testicule, rinichi, ovare, boli de prostată	Șobolani	(Kubsad et al., 2019)
Mercur	Modificări comportamentale	Pește zebra	(Carvan et al., 2017)

Secetă	Modificări ale metilării ADN-ului	Plante	(Hennig, 2014)
(Pre)diabet	Sensibilitate insuficientă la insulină	Șoareci	(Pavlinkova et al., 2017; Wei et al., 2014)
Fumat	Funcție pulmonară anormală	Șobolani	(Rehan et al., 2013)
Alcool	Defecte neurologice	Șoareci, șobolani	(Abbott et al., 2018; Govorko et al., 2012)

*Abrevieri: DEET - N,N-dietil-meta-toluamidă; DDT - diclorodifeniltricloretan; BPA - bisfenol A

2.4 Cercetările actuale și perspectivele moștenirii epigenetice

Deși încă subdezvoltat, studiul moștenirii epigeneticii la subiecții umani primește în mod constant mai multă atenție din partea comunității științifice. Prin urmare, un număr tot mai mare de studii originale apar în acest domeniu, adunând dovezi consistente privind contribuția sa la diferite boli umane, inclusiv cancerul, obezitatea, bolile neurodegenerative, bolile reproductive, sindromul ovarului polichistic, bolile cardiovasculare etc. (Denham, 2018; Hanson, 2019; E. E. Nilsson et al., 2018; Stener-Victorin & Deng, 2021).

Unele modificări epigenetice ar predispuce la un patologic, astfel încât un interes major în acest domeniu este studiul epimutațiilor moștenite asociate cancerului (Baylin și Jones, 2016). Ca atare, într-un studiu al lui Lesch et al. efectuat pe un model murin, s-a raportat că după îndepărtarea genetică a regulatorului de cromatină *Kdm6a* (*UTX*) din linia germinală parentală, incidența dezvoltării tumorii a crescut la descendenți (două generații). În plus, au descoperit, un nivel crescut de metilare a ADN-ului asociat H3K27me3 atât la nivelul spermatozoizilor, cât și în țesuturile somatice ale descendenților șoarecilor mutați. Aceste regiuni hipermetilate pot modifica reglarea genelor implicate în dezvoltarea tumorii și pot avea, de asemenea, un impact asupra susceptibilității la cancer la descendenți, prin moștenirea epigenetică inter-generațională (Lesch et al., 2019).

Într-un studiu recent, King și Skinner au investigat moștenirea epigenetică a obezității, deoarece diferiți factori de mediu pot reprograma epigenomul celulelor germinale, care transmit susceptibilitatea la boli descendenților prin mecanisme TEI. Prin urmare, ei au interogat, printr-o meta-analiză cuprinzătoare, mai multe studii originale pe această temă și au alcătuit o listă largă de factori de stres de mediu care pot induce epimutații ereditare care sunt asociate cu un risc crescut de obezitate. Lista lor includea expunerea la o dietă maternă și paternă bogată, prediabet patern, supranutriție paternă, foamete maternă și paternă, ftalați, metoxiclor, BPA, tributilină DDT, glifosat. Cu toate acestea, sunt necesare studii ample pentru a valida contribuția acestor insulte de mediu la moștenirea epigenetică a obezității (King & Skinner, 2020).

Cu toate acestea, validarea pe oameni este necesară pentru o mai bună înțelegere a semnelor epigenetice legate de obezitate și a moștenirii.

Un studiu recent al lui Bellver-Sanchis și colab., a constatat că modificările schimbărilor epigenetice care orchestrează diferite căi legate de funcția cognitivă ar putea fi dobândite de descendenți prin procesul de moștenire epigenetică. Aceste semne non-genetice ar putea prezenta, de asemenea, riscul de a dezvolta diferite afecțiuni neurologice, cum ar fi declinul cognitiv legat de vârstă și boala Alzheimer. Cu toate acestea, sunt necesare studii ample pentru a evalua valoarea modificării epigenetice ca potențială evaluare a riscului (prognostic), biomarkeri diagnostici și terapeutici neurodegenerativi (Bellver-Sanchis et al., 2021).

Moștenirea trans-generațională mediată de epigenetică este un fenomen fiziologic natural. Expunerea toxică în timpul ferestrelor importante de dezvoltare, pe de altă parte, poate duce la moștenirea liniei germinale a epimutațiilor și la o susceptibilitate crescută la boli reproductive la descendenți. Într-o analiză cuprinzătoare efectuată de Nilsson și Skinner, a fost raportată o listă largă de factori de mediu, care a inclus expunerea la vinclozolin, metoxiclor, dioxină, amestec de materiale plastice, permetrin, DDT, BPA, ftalați, tributilin, benzo[a]piren, dar și expunerea la stres cronic, consumul excesiv de alcool, dieta bogată în grăsimi și fumatul, în asociere cu riscul epigenetic moștenit pentru boala reproductivă (scăderea numărului de spermatozoizi, anomalii ale testiculelor, pierderea ovocitelor, chisturi ovariene etc.). Descoperirile lor atrag atenția asupra posibilității ca expunerea ancestrală la insultele de mediu să poată duce la moștenirea trans-generațională a unei susceptibilități mai mari la bolile de reproducere. Observațiile lor implică, de asemenea, că atât infertilitatea masculină, cât și cea feminină pot fi cauzate parțial de expunerile ancestrale de mediu transmise prin căile epigenetice TEI. Prin urmare, o nouă direcție de cercetare ar putea fi investigarea posibilei inversări / evitări a moștenirii acestor mărci non-genetice care joacă un rol în dezvoltarea bolii (E. E. Nilsson & Skinner, 2015).

Pe măsură ce moștenirea epigenetică a bolii apare ca un nou domeniu de cercetare biomedicală, se deschide un repertoriu larg de oportunități și perspective, inclusiv utilizarea relicvelor epigenetice ca potențiali biomarkeri pentru evaluarea riscului de boală, biomarkeri de diagnostic minim invazivi, dar și ca ținte moleculare pentru terapia epigenetică (Ahuja et al., 2016; Hatzimichael et al., 2014; Kamińska et al., 2019).

Concluzie

Moștenirea epigenetică a apărut drept o nouă abordare pentru a studia componentele genetice ale diferitelor trăsături de sănătate și boală, dar și modelele moleculare care stau la baza transferului lor multi-generațional. Ca atare, se știe în

prezent că modificările histonelor, metilarea ADN-ului și reglarea ncARN sunt principalele semne epigenetice (epimutații) care reglează expresia diferitelor gene și contribuie activ atât la dezvoltarea fiziologică, cât și la cea patologică. Există două tipuri de moștenire epigenetică: inter-generațională și trans-generațională, ultima apărând prin transmitere replicativă, transmitere reconstructivă și permutări, odată cu expunerea la anumiți factori de mediu.

Studiile pe animale au relevat dovezi extinse ale TEI și unele dintre aceste modificări au fost legate de obezitate, diabet, cancer și probleme de sănătate mintală. Dovezile pentru TEI la om sunt oarecum limitate, dar este încă un subiect activ de cercetare. În timp ce unele cercetări implică faptul că efectele epigenetice pot fi transmise de-a lungul generațiilor, stabilirea unor legături cauzale puternice între semnele epigenetice specifice și trăsăturile moștenite la om rămâne dificilă.

În general, cercetarea moștenirii epigenetice este un domeniu dificil, dar în creștere. În timp ce moștenirea epigenetică are potențialul de a lărgi înțelegerea moștenirii dincolo de informațiile genetice, sunt necesare mai multe cercetări pentru a înțelege complet mecanica și implicațiile moștenirii epigenetice la oameni.

Bibliografie

- Abbott, C. W., Rohac, D. J., Bottom, R. T., Patadia, S., & Huffman, K. J. (2018). Prenatal Ethanol Exposure and Neocortical Development: A Transgenerational Model of FASD. *Cerebral Cortex (New York, NY)*, 28(8), 2908–2921. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx168>
- Ahuja, N., Sharma, A. R., & Baylin, S. B. (2016). Epigenetic Therapeutics: A New Weapon in the War Against Cancer. *Annual Review of Medicine*, 67, 73–89. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-111314-035900>
- Al Aboud, N. M., Tupper, C., & Jialal, I. (2023). Genetics, Epigenetic Mechanism. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532999/>
- Allfrey, V. G., Faulkner, R., & Mirsky, A. E. (1964). ACETYLATION AND METHYLATION OF HISTONES AND THEIR POSSIBLE ROLE IN THE REGULATION OF RNA SYNTHESIS. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 51(5), 786–794. <https://doi.org/10.1073/pnas.51.5.786>
- Androvic, P., Valihrach, L., Elling, J., Sjoback, R., & Kubista, M. (2017). Two-tailed RT-qPCR: A novel method for highly accurate miRNA quantification. *Nucleic Acids Research*, 45(15), e144. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx588>
- Anway, M. D., Cupp, A. S., Uzumcu, M., & Skinner, M. K. (2005). Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science (New York, N.Y.)*, 308(5727), 1466–1469. <https://doi.org/10.1126/science.1108190>

- Banerjee, T., & Chakravarti, D. (2011). A Peek into the Complex Realm of Histone Phosphorylation ▽. *Molecular and Cellular Biology*, *31*(24), 4858–4873. <https://doi.org/10.1128/MCB.05631-11>
- Bannister, A. J., & Kouzarides, T. (2011). Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Research*, *21*(3), 381–395. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.22>
- Basu, A., & Tiwari, V. K. (2021). Epigenetic reprogramming of cell identity: Lessons from development for regenerative medicine. *Clinical Epigenetics*, *13*(1), 144. <https://doi.org/10.1186/s13148-021-01131-4>
- Baylin, S. B., & Jones, P. A. (2016). Epigenetic Determinants of Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *8*(9), a019505. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019505>
- Bellver-Sanchis, A., Pallàs, M., & Griñán-Ferré, C. (2021). The Contribution of Epigenetic Inheritance Processes on Age-Related Cognitive Decline and Alzheimer's Disease. *Epigenomes*, *5*(2), 15. <https://doi.org/10.3390/epigenomes5020015>
- Berdasco, M., & Esteller, M. (2011). DNA methylation in stem cell renewal and multipotency. *Stem Cell Research & Therapy*, *2*(5), 42. <https://doi.org/10.1186/scrt83>
- Berger, S. L., Kouzarides, T., Shiekhhattar, R., & Shilatifard, A. (2009). An operational definition of epigenetics. *Genes & Development*, *23*(7), 781–783. <https://doi.org/10.1101/gad.1787609>
- Bhandari, R. K., vom Saal, F. S., & Tillitt, D. E. (2015). Transgenerational effects from early developmental exposures to bisphenol A or 17 α -ethinylestradiol in medaka, *Oryzias latipes*. *Scientific Reports*, *5*, 9303. <https://doi.org/10.1038/srep09303>
- Booth, M. J., Ost, T. W. B., Beraldi, D., Bell, N. M., Branco, M. R., Reik, W., & Balasubramanian, S. (2013). Oxidative bisulfite sequencing of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine. *Nature Protocols*, *8*(10), 1841–1851. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.115>
- Bruner-Tran, K. L., Ding, T., Yeoman, K. B., Archibong, A., Arosh, J. A., & Osteen, K. G. (2014). Developmental exposure of mice to dioxin promotes transgenerational testicular inflammation and an increased risk of preterm birth in unexposed mating partners. *PloS One*, *9*(8), e105084. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105084>
- Canton, M., Farinati, S., Forestan, C., Joseph, J., Bonghi, C., & Varotto, S. (2022). An efficient chromatin immunoprecipitation (ChIP) protocol for studying histone modifications in peach reproductive tissues. *Plant Methods*, *18*(1), 43. <https://doi.org/10.1186/s13007-022-00876-0>
- Cao, M., Zhao, J., & Hu, G. (2019). Genome-wide methods for investigating long noncoding RNAs. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine &*

Pharmacotherapie, 111, 395–401. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.078>

- Carvan, M. J., Kalluvila, T. A., Klingler, R. H., Larson, J. K., Pickens, M., Mora-Zamorano, F. X., Connaughton, V. P., Sadler-Riggelman, I., Beck, D., & Skinner, M. K. (2017). Mercury-induced epigenetic transgenerational inheritance of abnormal neurobehavior is correlated with sperm epimutations in zebrafish. *PLoS One*, 12(5), e0176155. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176155>
- Chamorro-García, R., Sahu, M., Abbey, R. J., Laude, J., Pham, N., & Blumberg, B. (2013). Transgenerational inheritance of increased fat depot size, stem cell reprogramming, and hepatic steatosis elicited by prenatal exposure to the obesogen tributyltin in mice. *Environmental Health Perspectives*, 121(3), 359–366. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205701>
- Chandler, V. L. (2007). Paramutation: From Maize to Mice. *Cell*, 128(4), 641–645. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.007>
- Chuang, J. C., & Jones, P. A. (2007). Epigenetics and MicroRNAs. *Pediatric Research*, 61(7), Article 7. <https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e3180457684>
- Dai, B., Giardina, C., & Rasmussen, T. P. (2013). Quantitation of nucleosome acetylation and other histone posttranslational modifications using microscale NU-ELISA. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 981, 167–176. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-305-3_13
- De Bustos, C., Ramos, E., Young, J. M., Tran, R. K., Menzel, U., Langford, C. F., Eichler, E. E., Hsu, L., Henikoff, S., Dumanski, J. P., & Trask, B. J. (2009). Tissue-specific variation in DNA methylation levels along human chromosome 1. *Epigenetics & Chromatin*, 2(1), 7. <https://doi.org/10.1186/1756-8935-2-7>
- de Vanssay, A., Bougé, A.-L., Boivin, A., Hermant, C., Teyssset, L., Delmarre, V., Antoniewski, C., & Ronsseray, S. (2012). Paramutation in *Drosophila* linked to emergence of a piRNA-producing locus. *Nature*, 490(7418), 112–115. <https://doi.org/10.1038/nature11416>
- Delaney, C., Garg, S. K., & Yung, R. (2015). Analysis of DNA Methylation by Pyrosequencing. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1343, 249–264. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2963-4_19
- Denham, J. (2018). Exercise and epigenetic inheritance of disease risk. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 222(1). <https://doi.org/10.1111/apha.12881>
- Derks, S., Lentjes, M. H. F. M., Hellebrekers, D. M. E. I., de Bruïne, A. P., Herman, J. G., & van Engeland, M. (2004). Methylation-specific PCR unraveled. *Cellular Oncology: The Official Journal of the International Society for Cellular Oncology*, 26(5–6), 291–299. <https://doi.org/10.1155/2004/370301>
- Escobar, T. M., Oksuz, O., Saldaña-Meyer, R., Descostes, N., Bonasio, R., & Reinberg, D. (2019). Active and Repressed Chromatin Domains Exhibit Distinct Nucleosome

- Segregation during DNA Replication. *Cell*, 179(4), 953-963.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.009>
- Esteller, M. (2008). Epigenetics in evolution and disease. *The Lancet*, 372, S90-S96. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61887-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61887-5)
- Fitz-James, M. H., & Cavalli, G. (2022). Molecular mechanisms of transgenerational epigenetic inheritance. *Nature Reviews Genetics*, 23(6), Article 6. <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00438-5>
- Furey, T. S. (2012). ChIP-seq and beyond: New and improved methodologies to detect and characterize protein-DNA interactions. *Nature Reviews. Genetics*, 13(12), 840-852. <https://doi.org/10.1038/nrg3306>
- Gade, P., & Kalvakolanu, D. V. (2012). Chromatin Immunoprecipitation Assay as a Tool for Analyzing Transcription Factor Activity. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 809, 85-104. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-376-9_6
- Gibney, E. R., & Nolan, C. M. (2010). Epigenetics and gene expression. *Heredity*, 105(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.54>
- Gopalakrishnan, S., Van Emburgh, B. O., & Robertson, K. D. (2008). DNA methylation in development and human disease. *Mutation Research*, 647(1-2), 30-38. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2008.08.006>
- Gouil, Q., & Keniry, A. (2019). Latest techniques to study DNA methylation. *Essays in Biochemistry*, 63(6), 639-648. <https://doi.org/10.1042/EBC20190027>
- Govorko, D., Bekdash, R. A., Zhang, C., & Sarkar, D. K. (2012). Male Germline Transmits Fetal Alcohol Adverse Effect on Hypothalamic Proopiomelanocortin Gene Across Generations. *Biological Psychiatry*, 72(5), 378-388. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.04.006>
- Greer, E. L., & Shi, Y. (2012). Histone methylation: A dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nature Reviews Genetics*, 13(5), Article 5. <https://doi.org/10.1038/nrg3173>
- Grün, F., & Blumberg, B. (2006). Environmental obesogens: Organotins and endocrine disruption via nuclear receptor signaling. *Endocrinology*, 147(6 Suppl), S50-55. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1129>
- Ha, M., & Kim, V. N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(8), Article 8. <https://doi.org/10.1038/nrm3838>
- Hanson, M. (2019). The inheritance of cardiovascular disease risk. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*, 108(10), 1747-1756. <https://doi.org/10.1111/apa.14813>
- Hatzimichael, E., Lagos, K., Sim, V. R., Briasoulis, E., & Crook, T. (2014). Epigenetics in diagnosis, prognostic assessment and treatment of cancer: An update. *EXCLI Journal*, 13, 954-976.
- Heard, E., & Martienssen, R. A. (2014). Transgenerational epigenetic inheritance: Myths

- and mechanisms. *Cell*, *157*(1), 95–109. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.02.045>
- Hennig, L. (2014). Chromatin: Domestication of the monsters. *Journal of Experimental Botany*, *65*(10), 2767–2768. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru214>
- Hollick, J. B. (2017). Paramutation and related phenomena in diverse species. *Nature Reviews. Genetics*, *18*(1), 5–23. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.115>
- Isagawa, T., Nagae, G., Shiraki, N., Fujita, T., Sato, N., Ishikawa, S., Kume, S., & Aburatani, H. (2011). DNA Methylation Profiling of Embryonic Stem Cell Differentiation into the Three Germ Layers. *PLOS ONE*, *6*(10), e26052. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026052>
- John, R. M., & Rougeulle, C. (2018). Developmental Epigenetics: Phenotype and the Flexible Epigenome. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *6*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2018.00130>
- Joseph, D. B., Strand, D. W., & Vezina, C. M. (2018). DNA methylation in development and disease: An overview for prostate researchers. *American Journal of Clinical and Experimental Urology*, *6*(6), 197–218.
- Kamińska, K., Nalejska, E., Kubiak, M., Wojtysiak, J., Żoła, Ł., Kowalewski, J., & Lewandowska, M. A. (2019). Prognostic and Predictive Epigenetic Biomarkers in Oncology. *Molecular Diagnosis & Therapy*, *23*(1), 83–95. <https://doi.org/10.1007/s40291-018-0371-7>
- Kernaleguen, M., Daviaud, C., Shen, Y., Bonnet, E., Renault, V., Deleuze, J.-F., Mauger, F., & Tost, J. (2018). Whole-Genome Bisulfite Sequencing for the Analysis of Genome-Wide DNA Methylation and Hydroxymethylation Patterns at Single-Nucleotide Resolution. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, *1767*, 311–349. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7774-1_18
- Khan, S., Ayub, H., Khan, T., & Wahid, F. (2019). MicroRNA biogenesis, gene silencing mechanisms and role in breast, ovarian and prostate cancer. *Biochimie*, *167*, 12–24. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.09.001>
- King, S. E., & Skinner, M. K. (2020). Epigenetic Transgenerational Inheritance of Obesity Susceptibility. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, *31*(7), 478–494. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2020.02.009>
- Knecht, A. L., Truong, L., Marvel, S. W., Reif, D. M., Garcia, A., Lu, C., Simonich, M. T., Teeguarden, J. G., & Tanguay, R. L. (2017). Transgenerational inheritance of neurobehavioral and physiological deficits from developmental exposure to benzo[a]pyrene in zebrafish. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *329*, 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.05.033>
- Kolenda, T., Ryś, M., Guglas, K., Teresiak, A., Bliźniak, R., Mackiewicz, J., & Lamperska, K. (2019). Quantification of long non-coding RNAs using qRT-PCR: Comparison of different cDNA synthesis methods and RNA stability. *Archives of Medical*

- Science : AMS*, 17(4), 1006–1015. <https://doi.org/10.5114/aoms.2019.82639>
- Kremisky, I., & Corces, V. G. (2020). Protection from DNA re-methylation by transcription factors in primordial germ cells and pre-implantation embryos can explain trans-generational epigenetic inheritance. *Genome Biology*, 21(1), 118. <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02036-w>
- Kubsad, D., Nilsson, E. E., King, S. E., Sadler-Riggelman, I., Beck, D., & Skinner, M. K. (2019). Assessment of Glyphosate Induced Epigenetic Transgenerational Inheritance of Pathologies and Sperm Epimutations: Generational Toxicology. *Scientific Reports*, 9(1), 6372. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42860-0>
- Kurdyukov, S., & Bullock, M. (2016). DNA Methylation Analysis: Choosing the Right Method. *Biology*, 5(1), 3. <https://doi.org/10.3390/biology5010003>
- Lacal, I., & Ventura, R. (2018). Epigenetic Inheritance: Concepts, Mechanisms and Perspectives. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnmol.2018.00292>
- Legube, G., & Trouche, D. (2003). Regulating histone acetyltransferases and deacetylases. *EMBO Reports*, 4(10), 944–947. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.embor941>
- Lesch, B. J., Tothova, Z., Morgan, E. A., Liao, Z., Bronson, R. T., Ebert, B. L., & Page, D. C. (2019). Intergenerational epigenetic inheritance of cancer susceptibility in mammals. *ELife*, 8, e39380. <https://doi.org/10.7554/eLife.39380>
- Li, Y. (2021). Modern Epigenetics Methods in Biological Research. *Methods (San Diego, Calif.)*, 187, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.06.022>
- Li, Y., & Tollefsbol, T. O. (2011). DNA methylation detection: Bisulfite genomic sequencing analysis. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 791, 11–21. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-316-5_2
- Lister, R., Pelizzola, M., Dowen, R. H., Hawkins, R. D., Hon, G., Tonti-Filippini, J., Nery, J. R., Lee, L., Ye, Z., Ngo, Q.-M., Edsall, L., Antosiewicz-Bourget, J., Stewart, R., Ruotti, V., Millar, A. H., Thomson, J. A., Ren, B., & Ecker, J. R. (2009). Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature*, 462(7271), 315–322. <https://doi.org/10.1038/nature08514>
- Lombó, M., Fernández-Díez, C., González-Rojo, S., Navarro, C., Robles, V., & Herráez, M. P. (2015). Transgenerational inheritance of heart disorders caused by paternal bisphenol A exposure. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 206, 667–678. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.08.016>
- Manikkam, M., Haque, M. M., Guerrero-Bosagna, C., Nilsson, E. E., & Skinner, M. K. (2014). Pesticide methoxychlor promotes the epigenetic transgenerational inheritance of adult-onset disease through the female germline. *PloS One*, 9(7), e102091. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102091>

- Manikkam, M., Tracey, R., Guerrero-Bosagna, C., & Skinner, M. K. (2012a). Dioxin (TCDD) induces epigenetic transgenerational inheritance of adult onset disease and sperm epimutations. *PloS One*, *7*(9), e46249. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046249>
- Manikkam, M., Tracey, R., Guerrero-Bosagna, C., & Skinner, M. K. (2012b). Pesticide and insect repellent mixture (permethrin and DEET) induces epigenetic transgenerational inheritance of disease and sperm epimutations. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, *34*(4), 708–719. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2012.08.010>
- Manikkam, M., Tracey, R., Guerrero-Bosagna, C., & Skinner, M. K. (2013). Plastics derived endocrine disruptors (BPA, DEHP and DBP) induce epigenetic transgenerational inheritance of obesity, reproductive disease and sperm epimutations. *PloS One*, *8*(1), e55387. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055387>
- Meissner, A., Gnirke, A., Bell, G. W., Ramsahoye, B., Lander, E. S., & Jaenisch, R. (2005). Reduced representation bisulfite sequencing for comparative high-resolution DNA methylation analysis. *Nucleic Acids Research*, *33*(18), 5868–5877. <https://doi.org/10.1093/nar/gki901>
- Mikkelsen, T. S., Ku, M., Jaffe, D. B., Issac, B., Lieberman, E., Giannoukos, G., Alvarez, P., Brockman, W., Kim, T.-K., Koche, R. P., Lee, W., Mendenhall, E., O'Donovan, A., Presser, A., Russ, C., Xie, X., Meissner, A., Wernig, M., Jaenisch, R., ... Bernstein, B. E. (2007). Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. *Nature*, *448*(7153), 553–560. <https://doi.org/10.1038/nature06008>
- Milne, T. A., Zhao, K., & Hess, J. L. (2009). Chromatin Immunoprecipitation (ChIP) for Analysis of Histone Modifications and Chromatin-Associated Proteins. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, *538*, 409–423. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-418-6_21
- Miska, E. A., & Ferguson-Smith, A. C. (2016). Transgenerational inheritance: Models and mechanisms of non-DNA sequence-based inheritance. *Science (New York, N.Y.)*, *354*(6308), 59–63. <https://doi.org/10.1126/science.aaf4945>
- Mohamed, E.-S. A., Song, W.-H., Oh, S.-A., Park, Y.-J., You, Y.-A., Lee, S., Choi, J.-Y., Kim, Y.-J., Jo, I., & Pang, M.-G. (2010). The transgenerational impact of benzo(a)pyrene on murine male fertility. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *25*(10), 2427–2433. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq205>
- Moore, L. D., Le, T., & Fan, G. (2013). DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology*, *38*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>
- Nilsson, E. E., Sadler-Riggelman, I., & Skinner, M. K. (2018). Environmentally induced

- epigenetic transgenerational inheritance of disease. *Environmental Epigenetics*, 4(2), dvy016. <https://doi.org/10.1093/eep/dvy016>
- Nilsson, E. E., & Skinner, M. K. (2015). Environmentally Induced Epigenetic Transgenerational Inheritance of Reproductive Disease1. *Biology of Reproduction*, 93(6), 145, 1–8. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.134817>
- Nilsson, E., King, S. E., McBirney, M., Kubsad, D., Pappalardo, M., Beck, D., Sadler-Riggelman, I., & Skinner, M. K. (2018). Vinclozolin induced epigenetic transgenerational inheritance of pathologies and sperm epimutation biomarkers for specific diseases. *PloS One*, 13(8), e0202662. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202662>
- Ober, C., & Vercelli, D. (2011). Gene-environment interactions in human disease: Nuisance or opportunity? *Trends in Genetics: TIG*, 27(3), 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2010.12.004>
- O'Geen, H., Echipare, L., & Farnham, P. J. (2011). Using ChIP-Seq Technology to Generate High-Resolution Profiles of Histone Modifications. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 791, 265–286. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-316-5_20
- Önder, Ö., Sidoli, S., Carroll, M., & Garcia, B. A. (2015). Progress in epigenetic histone modification analysis by mass spectrometry for clinical investigations. *Expert Review of Proteomics*, 12(5), 499–517. <https://doi.org/10.1586/14789450.2015.1084231>
- Pajares, M. J., Alemany-Cosme, E., Goñi, S., Bandres, E., Palanca-Ballester, C., & Sandoval, J. (2021). Epigenetic Regulation of microRNAs in Cancer: Shortening the Distance from Bench to Bedside. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14), 7350. <https://doi.org/10.3390/ijms22147350>
- Pang, T. Y. C., Short, A. K., Bredy, T. W., & Hannan, A. J. (2017). Transgenerational paternal transmission of acquired traits: Stress-induced modification of the sperm regulatory transcriptome and offspring phenotypes. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 14, 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2017.02.007>
- Pavlinkova, G., Margaryan, H., Zatecka, E., Valaskova, E., Elzeinova, F., Kubatova, A., Bohuslavova, R., & Peknicova, J. (2017). Transgenerational inheritance of susceptibility to diabetes-induced male subfertility. *Scientific Reports*, 7(1), 4940. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05286-0>
- Peschansky, V. J., & Wahlestedt, C. (2014). Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation. *Epigenetics*, 9(1), 3–12. <https://doi.org/10.4161/epi.27473>
- Petryk, N., Dalby, M., Wenger, A., Stromme, C. B., Strandsby, A., Andersson, R., & Groth, A. (2018). MCM2 promotes symmetric inheritance of modified histones during

- DNA replication. *Science (New York, N.Y.)*, *361*(6409), 1389–1392. <https://doi.org/10.1126/science.aau0294>
- Pillai, S., & Chellappan, S. P. (2009). ChIP on chip assays: Genome-wide analysis of transcription factor binding and histone modifications. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, *523*, 341–366. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-190-1_23
- Pilu, R. (2011). Paramutation: Just a Curiosity or Fine Tuning of Gene Expression in the Next Generation? *Current Genomics*, *12*(4), 298–306. <https://doi.org/10.2174/138920211795860099>
- Pilu, R. (2015). Paramutation phenomena in plants. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *44*, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.08.015>
- Rehan, V. K., Liu, J., Sakurai, R., & Torday, J. S. (2013). Perinatal nicotine-induced transgenerational asthma. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, *305*(7), L501–L507. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00078.2013>
- Reverón-Gómez, N., González-Aguilera, C., Stewart-Morgan, K. R., Petryk, N., Flury, V., Graziano, S., Johansen, J. V., Jakobsen, J. S., Alabert, C., & Groth, A. (2018). Accurate Recycling of Parental Histones Reproduces the Histone Modification Landscape during DNA Replication. *Molecular Cell*, *72*(2), 239–249.e5. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.08.010>
- Rong, D., Sun, G., Wu, F., Cheng, Y., Sun, G., Jiang, W., Li, X., Zhong, Y., Wu, L., Zhang, C., Tang, W., & Wang, X. (2021). Epigenetics: Roles and therapeutic implications of non-coding RNA modifications in human cancers. *Molecular Therapy. Nucleic Acids*, *25*, 67–82. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2021.04.021>
- Rossetto, D., Avvakumov, N., & Côté, J. (2012). Histone phosphorylation. *Epigenetics*, *7*(10), 1098–1108. <https://doi.org/10.4161/epi.21975>
- Sanabria, M., Cuciolo, M. S., Guerra, M. T., Dos Santos Borges, C., Banzato, T. P., Perobelli, J. E., Leite, G. A. A., Anselmo-Franci, J. A., & De Grava Kempinas, W. (2016). Sperm quality and fertility in rats after prenatal exposure to low doses of TCDD: A three-generation study. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, *65*, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.06.019>
- Saze, H. (2008). Epigenetic memory transmission through mitosis and meiosis in plants. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, *19*(6), 527–536. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2008.07.017>
- Seisenberger, S., Andrews, S., Krueger, F., Arand, J., Walter, J., Santos, F., Popp, C., Thienpont, B., Dean, W., & Reik, W. (2012). The dynamics of genome-wide DNA methylation reprogramming in mouse primordial germ cells. *Molecular Cell*, *48*(6), 849–862. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.11.001>

- Skinner, M. K. (2008). What is an Epigenetic Transgenerational Phenotype? F3 or F2. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 25(1), 2–6. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.09.001>
- Stener-Victorin, E., & Deng, Q. (2021). Transmission of Polycystic Ovary Syndrome via Epigenetic Inheritance. *Trends in Molecular Medicine*, 27(8), 723–724. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2021.05.005>
- Stephens, K. E., Miaskowski, C. A., Levine, J. D., Pullinger, C. R., & Aouizerat, B. E. (2013). Epigenetic Regulation and Measurement of Epigenetic Changes. *Biological Research for Nursing*, 15(4), 373–381. <https://doi.org/10.1177/1099800412444785>
- Suter, C. M., & Martin, D. I. K. (2010). Paramutation: The tip of an epigenetic iceberg? *Trends in Genetics: TIG*, 26(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2009.11.003>
- Tertiary siRNAs mediate paramutation in C. elegans—PubMed*. (n.d.). Retrieved July 10, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25811365/>
- The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). (1976). *Bulletin of the World Health Organization*, 54(2), 129–139.
- Tracey, R., Manikkam, M., Guerrero-Bosagna, C., & Skinner, M. K. (2013). Hydrocarbons (jet fuel JP-8) induce epigenetic transgenerational inheritance of obesity, reproductive disease and sperm epimutations. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 36, 104–116. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2012.11.011>
- Uchida, S., & Bolli, R. (2018). Short and Long Noncoding RNAs Regulate the Epigenetic Status of Cells. *Antioxidants & Redox Signaling*, 29(9), 832–845. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7262>
- van Otterdijk, S. D., & Michels, K. B. (2016). Transgenerational epigenetic inheritance in mammals: How good is the evidence? *The FASEB Journal*, 30(7), 2457–2465. <https://doi.org/10.1096/fj.201500083>
- Varkonyi-Gasic, E., Wu, R., Wood, M., Walton, E. F., & Hellens, R. P. (2007). Protocol: A highly sensitive RT-PCR method for detection and quantification of microRNAs. *Plant Methods*, 3(1), 12. <https://doi.org/10.1186/1746-4811-3-12>
- Wang, L., Zhang, J., Duan, J., Gao, X., Zhu, W., Lu, X., Yang, L., Zhang, J., Li, G., Ci, W., Li, W., Zhou, Q., Aluru, N., Tang, F., He, C., Huang, X., & Liu, J. (2014). Programming and inheritance of parental DNA methylomes in mammals. *Cell*, 157(4), 979–991. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.04.017>
- Wei, Y., Yang, C.-R., Wei, Y.-P., Zhao, Z.-A., Hou, Y., Schatten, H., & Sun, Q.-Y. (2014). Paternally induced transgenerational inheritance of susceptibility to diabetes in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(5), 1873–1878. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321195111>
- Wolstenholme, J. T., Edwards, M., Shetty, S. R. J., Gatewood, J. D., Taylor, J. A., Rissman,

- E. F., & Connelly, J. J. (2012). Gestational Exposure to Bisphenol A Produces Transgenerational Changes in Behaviors and Gene Expression. *Endocrinology*, *153*(8), 3828–3838. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1195>
- Yao, Q., Chen, Y., & Zhou, X. (2019). The roles of microRNAs in epigenetic regulation. *Current Opinion in Chemical Biology*, *51*, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.01.024>
- Zhao, Z., & Shilatifard, A. (2019). Epigenetic modifications of histones in cancer. *Genome Biology*, *20*(1), 245. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1870-5>
- Zhu, J.-K. (2009). Active DNA Demethylation Mediated by DNA Glycosylases. *Annual Review of Genetics*, *43*, 143–166. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134205>

3. Imprimarea genomică și reprogramarea epigenetică

Cornelia Braicu¹, Oana Zanoagă¹, Ioan Berindan-Neagoe¹

¹Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Introducere

Modelarea genomică și reprogramarea epigenetică sunt procese interconectate care implică stabilirea și menținerea unor markeri epigenetici specifici pentru a regla modelele de expresie genică în timpul dezvoltării și diferențierii celulare. Perturbările acestor procese pot avea consecințe semnificative asupra dezvoltării normale și pot contribui la diferite boli și tulburări. Întreruperile în modelarea genomică și reprogramarea epigenetică sunt observate în diferite tipuri de cancer și pot contribui la inițierea, progresia și rezistența la terapie a tumorii. Studiarea acestor procese în celulele canceroase oferă perspective asupra mecanismelor care stau la baza oncogenezei și poate duce la dezvoltarea de noi strategii terapeutice care vizează epigenomul.

3.1. Modelarea genomică - istoric

De la aceste descoperiri inițiale, au fost efectuate cercetări ample pentru a descoperi principalele mecanisme și semnificația funcțională a amprentării genomice și a reprogramării epigenetice. S-a constatat că este larg răspândită la mamifere și joacă roluri cruciale în dezvoltarea embrionară, funcția placentară și creșterea postnatală. Modificările în modelare au fost, de asemenea, identificate la om, subliniind importanța amprentării genomice în sănătatea și bolile umane (Plasschaert și Bartolomei, 2014; Tucci et al., 2019).

De la descoperirea modelării genomice, s-au făcut progrese semnificative în înțelegerea mecanismelor epigenetice care controlează expresia genelor specifice parentale. Aceste mecanisme implică metilarea ADN-ului, modificări ale histonelor și ARN-uri non-codificatoare, care reglează colectiv inhibarea sau activarea genelor modelate (Ferguson-Smith & Bourc'his, 2018).

Modelarea genomică este un fenomen epigenetic care are ca rezultat expresia diferențială a genelor în funcție de originea lor parentală. Aceasta implică marcarea sau "modelarea" anumitor gene în timpul formării gameților, unde anumite regiuni ale ADN-ului sunt modificate chimic fără a modifica secvența ADN în sine (Macdonald, 2012).

La mamifere, anumite gene sunt marcate cu modificări epigenetice în timpul gametogenezei, iar aceste semne sunt menținute în celulele somatice pe tot parcursul

vieții unui individ. Genele modelate sunt exprimate dintr-o singură alelă (fie alela moștenită matern, fie patern), în timp ce cealaltă alelă este suprimată. Această expresie monoalelică poate duce la dezechilibre de dozare ale produselor genetice, ceea ce duce la efecte fenotipice specifice (Barlow & Bartolomei, 2014).

Modelarea are loc prin adăugarea unor markeri chimici, cum ar fi grupările metil, la molecula de ADN sau modificarea proteinelor asociate denumite histone. Aceste semne servesc ca etichete epigenetice care pot influența expresia genelor. La mamifere, modelarea are loc în primul rând într-o manieră specifică sexului, cu diferite seturi de gene imprimare în spermatozoizi și ovule.

Procesul de modelare este stabilit în timpul gametogenezei, cu stabilirea diferitelor modele în liniile germinale masculine și feminine. Aceasta implică ștergerea modelelor preexistente în celulele germinale primordiale și stabilirea de noi amprente în timpul gametogenezei. Modelele sunt apoi menținute pe tot parcursul dezvoltării, iar efectele lor pot fi observate în diferite țesuturi și organe (Edgy & Flint, 2011).

Genele modelate apar de obicei în clustere sau regiuni cunoscute sub numele de regiuni de control ale modelării (ICR). Aceste ICR conțin elemente care controlează expresia genelor modelate vecine. Modelele acestor regiuni sunt de obicei șterse și resetate în embrionul în curs de dezvoltare și apoi restabilite în celulele germinale ale generației următoare (Plasschaert & Bartolomei, 2014).

În general, modelarea genomică este un proces complex și strict reglementat care joacă un rol critic în reglarea expresiei genelor în timpul dezvoltării și are implicații pentru sănătatea și bolile umane. Contribuie la diversitatea și complexitatea funcțiilor celulelor și organismelor, permițând genelor să fie exprimate diferențiat în funcție de originea lor parentală (Moore et al., 2015).

Modelarea genomică este moștenirea granițelor mendeliene (Bayrami & Spiroski, 2016). Multe dintre bolile moștenite și dezvoltarea umană încalcă această lege a moștenirii, care descrie principiile alelelor dominante și recesive care se separă într-o manieră previzibilă de la părinți la descendenți (Bayrami & Spiroski, 2016). Consecința modelării genomice o reprezintă faptul că anumite gene sunt exprimate exclusiv din alela maternă sau paternă, rezultând expresia monoalelică. Această expresie monoalelică poate avea efecte semnificative asupra dezvoltării, deoarece poate duce la diferențe în dozarea genelor și poate influența expresia genelor modelate implicate în creștere, metabolism și comportament (Moore et al., 2015). Tulburările de modelare pot apărea atunci când stabilirea, întreținerea sau ștergerea normală a modelelor este întreruptă. Exemple de tulburări de modelare la om includ sindromul Beckwith-Wiedemann și sindromul Angelman, care se caracterizează prin diferite anomalii de dezvoltare.

3.2. Reprogramarea epigenetică

Reprogramarea epigenetică se referă la ștergerea și restabilirea semnelor epigenetice, inclusiv modelele de metilare a ADN-ului și modificările histonelor, în timpul etapelor specifice de dezvoltare. Apare în dezvoltarea embrionară timpurie, în special în timpul formării celulelor germinale (precursori ai spermatozoizilor și celulelor ou) și, de asemenea, în ovulul fertilizat după fuziunea spermatozoizilor și a ovulului.

În timpul reprogramării epigenetice, markerii epigenetici existenți sunt șterși, iar celulele suferă o resetare globală a stării lor epigenetice. Această reprogramare este esențială pentru dobândirea totipotenței, unde celulele au potențialul de a se diferenția în orice tip de celulă. Aceasta permite stabilirea unei noi perspective epigenetice care ghidează diferențierea și dezvoltarea ulterioară a diferitelor linii celulare.

Reprogramarea epigenetică implică procese precum demetilarea ADN-ului, modificări ale histonelor și remodelarea structurii cromatinei. Eșecul sau anomaliile în acest proces de reprogramare pot duce la anomalii de dezvoltare și boli.

În general, modelarea genomică și reprogramarea epigenetică sunt procese interconectate care contribuie la reglarea expresiei genelor, diferențierea celulară și dezvoltarea. Acestea oferă mecanisme pentru ca celulele să moștenească și să transmită informații epigenetice într-o manieră care poate influența modelele de expresie genică pe tot parcursul vieții unui individ.

Factorii de mediu, cum ar fi expunerea la anumite substanțe chimice sau toxine, pot influența reglarea epigenetică a genelor imprimare. Aceste expuneri la mediu pot duce la modificarea modelelor de metilare a ADN-ului și la întreruperea modelării, crescând potențialul risc de dezvoltare a cancerului (Tiffon, 2018).

Reglarea epigenetică prin modelare este vitală pentru modelele adecvate de expresie a genelor în timpul dezvoltării și maturității. Perturbările acestor modele pot duce la diverse tulburări genetice și anomalii de dezvoltare. Înțelegerea procesului de modelare epigenetică oferă informații valoroase despre complexitatea reglării și moștenirii genelor, contribuind la cunoștințele noastre despre biologie și sănătate.

3.3. Interacțiunea dintre modelarea genomică și reprogramarea epigenetică în cancer

Întreruperea modelării genomice și reprogramarea epigenetică pot avea implicații în diferite boli, inclusiv cancerul.

Studierea modelării genomice și a reprogramării epigenetice în contextul cancerului oferă perspective asupra mecanismelor care stau la baza tumorigenezei, identifică potențiali markeri de diagnostic și prognostic și oferă oportunități pentru dezvoltarea de noi strategii terapeutice bazate pe epigenetică.

Genele modelate au adesea regiuni metilate diferențiat (DMR), unde modele de metilare a ADN-ului sunt distincte între alelele maternel și patern. Metilarea ADN-ului la aceste DMR este stabilă în timpul gametogenezei și menținută după fertilizare. Prin urmare, metilarea ADN-ului este un semn epigenetic cheie implicat în modelarea genomică (Choufani et al., 2011).

NAP1L5 (Nucleosome Assembly Protein 1 Like 5) și ZNF597 (Zinc Finger Protein 597) sunt două gene care au fost propuse ca noi gene modelate candidate în studii recente (Choufani et al., 2011; Wang et al., 2022). Studiul a analizat modelele de metilare a ADN-ului în probele de placentă umană și a găsit dovezi ale metilării diferențiale între alelele moștenite matern și patern la locusul NAP1L5, sugerând modelarea genomică.

Un studiu recent a efectuat o analiză cuprinzătoare a genelor modelate în țesuturile embrionare și fetale umane și a identificat ZNF597 ca o potențială genă nouă modelată (Yamazawa et al., 2021). Studiul a raportat modele diferențiale de metilare a ADN-ului la locusul ZNF597, indicând o posibilă expresie specifică alelei parentale (Choufani et al., 2011; Yamazawa et al., 2021). Pierderea modelului genomic ZNF597 determină întârzierea creșterii prenatale și caracteristici dismorfice, acest lucru va avea implicații clinice importante, fiind legat de sindromul Silver-Russell (Yamazawa et al., 2021).

Tabelul 1. Un exemplu de genă imprimată implicată în boala umană

Nr.	Genă	Boală	Observare	Ref
1	PNA1L5	Boala Alzheimer	Biomarker potențial și țintă pentru diagnostic și tratament	(Wang et al., 2022)
2	ZNF597	Sindromul Silver-Russell	Screening prenatal	(Yamazawa et al., 2021)
3	PEG3, MEST și GNAS	Cancer mamar, pulmonar și ovarian	Utilizarea potențială ca biomarkeri ai cancerului	(Kim et al., 2015)
4	HM13	Cancer mamar	Supraexprimată în cancer	(Goovaerts et al., 2018)
5	NDN	cancer ovarian	gena supresoare tumorală	(Yang et al., 2016)
6	KCNQ1, KCNQ1OT1 și PHLDA2	Cancer mamar	Biomarkeri potențiali	(Fu et al., 2022)
7	IGF2, PEG3-AS și CPA	carcinom cu celule scuamoase la nivelul capului și gâtului	Selectarea medicamentului în chimioterapie	(Hsu et al., 2016)

3.3.1. Pierderea modelului (LOI)

Pierderea modelului genomic (LOI) se referă la perturbarea modelelor normale de expresie genetică specifică alelei parentale observate în genele modelate. În mod normal, genele modelate prezintă expresie monoalelică, doar o alelă parentală fiind activă, în timp ce cealaltă este suprimată epigenetic. LOI apare atunci când ambele alele ale unei gene modelate devin active sau când alela inactivă este exprimată anormal. LOI poate apărea datorită mai multor mecanisme, inclusiv modificări ale metilării ADN-ului, mutații genetice sau modificări ale mărcilor epigenetice care reglează expresia genelor modelate. LOI poate afecta gene specifice modelate sau poate apărea la nivel global, afectând mai mulți loci amprentați.

LOI în genele modelate a fost asociată cu dezvoltarea și progresia cancerului. Expresia modificată a genelor modelate poate afecta procesele celulare critice, cum ar fi creșterea celulară, apoptoza și repararea ADN-ului, contribuind la tumorigeneză. LOI a fost raportată în diferite tipuri de cancer, inclusiv cancerul colorectal, tumora Wilms și cancerul de sân, printre altele (Cui et al., 1998; Jelicic & Shaw, 2007)

Genele modelate pot acționa ca supresoare tumorale sau oncogene. LOI sau metilarea aberantă a ADN-ului la locii genelor modelate poate duce la dereglarea lor. De exemplu, LOI a genei factorului de creștere asemănător insulinei 2 (IGF2), o genă modelată exprimată patern, a fost asociată cu mai multe tipuri de cancer, inclusiv cancerul colorectal, hepatic și pulmonar (Livingstone, 2013). Modificarea expresiei genelor modelate poate perturba funcțiile celulare normale, cum ar fi controlul creșterii celulare, apoptoza și repararea ADN-ului, contribuind la dezvoltarea cancerului (Livingstone, 2013).

LOI a H19 poate apărea din cauza modificărilor epigenetice în regiunile de reglementare care controlează expresia genelor modelate. În mod specific, alterări ale profilelor de metilare a ADN-ului al DMR asociate cu H19 pot perturba semnele normale de modelare, ducând la pierderea expresiei genelor specifice alelei (Srivastava et al., 2000). Genele H19 și IGF2 împărtășesc o regiune de reglementare cu acțiune cis situată anterior de gena H19, cunoscută sub numele de regiunea de control a modelării 1 (ICR1) sau DMR. Această regiune joacă un rol critic în reglarea expresiei monoalelice a H19 și IGF2 în celulele normale. ICR1/DMR acționează ca un comutator epigenetic care determină dacă H19 sau IGF2 este exprimat din alela paternă sau, respectiv, maternă. ICR1/DMR este metilat diferențiat și prezintă modele de metilare a ADN-ului specific alelei (Srivastava et al., 2000).

Pe alela paternă, ICR1/ DMR este metilat, ceea ce duce la reducerea la tăcere a expresiei H19. În același timp, starea metilată a ICR1/ DMR acționează ca un izolator, împiedicând răspândirea activității potențiatorului de la gena IGF2 la H19. Pe alela maternă, ICR1/ DMR este nemetilat, permițând legarea factorilor specifici de

transcripție și activarea expresiei H19. Starea nemetilată a ICR1/ DMR permite, de asemenea, interacțiunea potențiatorilor cu promotorul H19, reglând expresia acestuia. Regiunea de reglementare comună anterior de H19 guvernează astfel expresia reciprocă a H19 și IGF2 într-un mod specific. Starea de metilare a ADN-ului ICR1/DMR acționează ca un semn epigenetic critic care determină modelul de expresie specific alelei acestor gene (Srivastava et al., 2000).

LOI a genei SNRPN (polipeptida N a ribonucleoproteinei nucleare mici) este un fenomen bine documentat observat în anumite tipuri de cancer. SNRPN este o genă modelată localizată pe cromozomul 15q11-q13 și este implicată în dezvoltarea și funcționarea normală a creierului. În celulele normale, SNRPN prezintă un model de expresie specific, alela paternă fiind activă și alela maternă fiind suprimată. Această expresie monoalelică este reglată de marcajele de metilare a ADN-ului în regiunea de control a modelării SNRPN (ICR). Expresia normală specifică alelei SNRPN este întreruptă și apare expresia bialelică a genei, ceea ce înseamnă că atât alelele maternelne, cât și cele paternelne sunt active. Acest lucru poate rezulta din modificări epigenetice, cum ar fi modificările de metilare a ADN-ului, la SNRPN ICR.

LOI a SNRPN a fost raportat în mai multe tipuri de cancer, inclusiv tumora Wilms, cancerul colorectal și carcinomul hepatocelular. Expresia bialelică a SNRPN în aceste tipuri de cancer poate contribui la procesele celulare anormale și poate avea un impact potențial asupra dezvoltării și progresiei tumorii (Shen et al., 2020).

Consecințele SNRPN LOI în cancer sunt încă elucidate, dar studiile au sugerat că dereglarea expresiei SNRPN poate afecta creșterea, proliferarea și apoptoza celulară. În plus, SNRPN LOI poate influența expresia altor gene modelate în regiunea 15q11-q13, cum ar fi genele UBE3A și GABRB3, care pot contribui în continuare la procesul tumorigen (Hogart et al., 2007).

Mecanismele care stau la baza SNRPN LOI nu sunt încă pe deplin înțelese. Cu toate acestea, modificările modelelor de metilare a ADN-ului la SNRPN ICR, posibil influențate de factori genetici sau de mediu, au fost implicate în întreruperea modelării și dereglarea expresiei SNRPN în cancer (Dong et al., 2017).

Concluzie

Întreruperile în modelarea genomică și reprogramarea epigenetică sunt observate în diferite tipuri de cancer și pot contribui la inițierea, progresia și rezistența la terapie a tumorii. Studiarea acestor procese în celulele canceroase oferă perspective asupra mecanismelor care stau la baza oncogenezei și poate duce la dezvoltarea de noi strategii terapeutice care vizează epigenomul.

Sunt necesare cercetări suplimentare pentru a descoperi genele specifice modelate și modificările epigenetice care conduc la diferite tipuri de cancer și pentru

a dezvoltă terapii țintite care exploatează aceste anomalii epigenetice pentru îmbunătățirea diagnosticului și tratamentului cancerului.

Bibliografie

- Bajrami, E., & Spiroski, M. (2016). Genomic Imprinting. *Open Access Maced J Med Sci*, 4(1), 181-184. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2016.028>
- Barlow, D. P., & Bartolomei, M. S. (2014). Genomic imprinting in mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 6(2). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018382>
- Choufani, S., Shapiro, J. S., Susiarjo, M., Butcher, D. T., Grafodatskaya, D., Lou, Y., Ferreira, J. C., Pinto, D., Scherer, S. W., Shaffer, L. G., Coullin, P., Caniggia, I., Beyene, J., Slim, R., Bartolomei, M. S., & Weksberg, R. (2011). A novel approach identifies new differentially methylated regions (DMRs) associated with imprinted genes. *Genome Res*, 21(3), 465-476. <https://doi.org/10.1101/gr.111922.110>
- Cui, H., Horon, I. L., Ohlsson, R., Hamilton, S. R., & Feinberg, A. P. (1998). Loss of imprinting in normal tissue of colorectal cancer patients with microsatellite instability. *Nat Med*, 4(11), 1276-1280. <https://doi.org/10.1038/3260>
- Dong, H., Wang, Y., Zou, Z., Chen, L., Shen, C., Xu, S., Zhang, J., Zhao, F., Ge, S., Gao, Q., Hu, H., Song, M., & Wang, W. (2017). Abnormal Methylation of Imprinted Genes and Cigarette Smoking: Assessment of Their Association With the Risk of Male Infertility. *Reprod Sci*, 24(1), 114-123. <https://doi.org/10.1177/1933719116650755>
- Ferguson-Smith, A. C., & Bourc'his, D. (2018). The discovery and importance of genomic imprinting. *Elife*, 7. <https://doi.org/10.7554/eLife.42368>
- Fu, J., Zhang, L., Li, D., Tian, T., Wang, X., Sun, H., Ge, A., Liu, Y., Zhang, X., Huang, H., Meng, S., Zhang, D., Zhao, L., Sun, S., Zheng, T., Jia, C., Zhao, Y., & Pang, D. (2022). DNA Methylation of Imprinted Genes KCNQ1, KCNQ1OT1, and PHLDA2 in Peripheral Blood Is Associated with the Risk of Breast Cancer. *Cancers (Basel)*, 14(11). <https://doi.org/10.3390/cancers14112652>
- Goovaerts, T., Steyaert, S., Vandenbussche, C. A., Galle, J., Thas, O., Van Criekinge, W., & De Meyer, T. (2018). A comprehensive overview of genomic imprinting in breast and its deregulation in cancer. *Nat Commun*, 9(1), 4120. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06566-7>
- Hogart, A., Nagarajan, R. P., Patzel, K. A., Yasui, D. H., & Lasalle, J. M. (2007). 15q11-13 GABAA receptor genes are normally biallelically expressed in brain yet are subject to epigenetic dysregulation in autism-spectrum disorders. *Hum Mol Genet*, 16(6), 691-703. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm014>
- Hsu, C. M., Lin, P. M., Lin, H. C., Lai, C. C., Yang, C. H., Lin, S. F., & Yang, M. Y. (2016). Altered Expression of Imprinted Genes in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Anticancer Res*, 36(5), 2251-2258.

- Jelinic, P., & Shaw, P. (2007). Loss of imprinting and cancer. *J Pathol*, *211*(3), 261-268. <https://doi.org/10.1002/path.2116>
- Kim, J., Bretz, C. L., & Lee, S. (2015). Epigenetic instability of imprinted genes in human cancers. *Nucleic Acids Res*, *43*(22), 10689-10699. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv867>
- Li, Y., & Sasaki, H. (2011). Genomic imprinting in mammals: its life cycle, molecular mechanisms and reprogramming. *Cell Res*, *21*(3), 466-473. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.15>
- Livingstone, C. (2013). IGF2 and cancer. *Endocrine-Related Cancer*, *20*(6), R321-R339. <https://doi.org/10.1530/erc-13-0231>
- Macdonald, W. A. (2012). Epigenetic mechanisms of genomic imprinting: common themes in the regulation of imprinted regions in mammals, plants, and insects. *Genet Res Int*, *2012*, 585024. <https://doi.org/10.1155/2012/585024>
- Moore, G. E., Ishida, M., Demetriou, C., Al-Olabi, L., Leon, L. J., Thomas, A. C., Abu-Amero, S., Frost, J. M., Stafford, J. L., Chaoqun, Y., Duncan, A. J., Baigel, R., Brimiouille, M., Iglesias-Platas, I., Apostolidou, S., Aggarwal, R., Whittaker, J. C., Syngelaki, A., Nicolaides, K. H., . . . Stanier, P. (2015). The role and interaction of imprinted genes in human fetal growth. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, *370*(1663), 20140074. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0074>
- Plasschaert, R. N., & Bartolomei, M. S. (2014). Genomic imprinting in development, growth, behavior and stem cells. *Development*, *141*(9), 1805-1813. <https://doi.org/10.1242/dev.101428>
- Shen, R., Cheng, T., Xu, C., Yung, R. C., Bao, J., Li, X., Yu, H., Lu, S., Xu, H., Wu, H., Zhou, J., Bu, W., Wang, X., Si, H., Shi, P., Zhao, P., Liu, Y., Deng, Y., Zhu, Y., . . . Bai, C. (2020). Novel visualized quantitative epigenetic imprinted gene biomarkers diagnose the malignancy of ten cancer types. *Clinical Epigenetics*, *12*(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s13148-020-00861-1>
- Srivastava, M., Hsieh, S., Grinberg, A., Williams-Simons, L., Huang, S. P., & Pfeifer, K. (2000). H19 and Igf2 monoallelic expression is regulated in two distinct ways by a shared cis acting regulatory region upstream of H19. *Genes Dev*, *14*(10), 1186-1195.
- Tiffon, C. (2018). The Impact of Nutrition and Environmental Epigenetics on Human Health and Disease. *Int J Mol Sci*, *19*(11). <https://doi.org/10.3390/ijms19113425>
- Tucci, V., Isles, A. R., Kelsey, G., & Ferguson-Smith, A. C. (2019). Genomic Imprinting and Physiological Processes in Mammals. *Cell*, *176*(5), 952-965. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.043>

- Wang, B., Liu, W., & Sun, F. (2022). Nucleosome assembly protein 1-like 5 alleviates Alzheimer's disease-like pathological characteristics in a cell model. *Front Mol Neurosci*, *15*, 1034766. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.1034766>
- Yamazawa, K., Inoue, T., Sakemi, Y., Nakashima, T., Yamashita, H., Khono, K., Fujita, H., Enomoto, K., Nakabayashi, K., Hata, K., Nakashima, M., Matsunaga, T., Nakamura, A., Matsubara, K., Ogata, T., & Kagami, M. (2021). Loss of imprinting of the human-specific imprinted gene ZNF597 causes prenatal growth retardation and dysmorphic features: implications for phenotypic overlap with Silver-Russell syndrome. *J Med Genet*, *58*(6), 427-432. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2020-107019>
- Yang, H., Das, P., Yu, Y., Mao, W., Wang, Y., Baggerly, K., Wang, Y., Marquez, R. T., Bedi, A., Liu, J., Fishman, D., Lu, Z., & Bast, R. C., Jr. (2016). NDN is an imprinted tumor suppressor gene that is downregulated in ovarian cancers through genetic and epigenetic mechanisms. *Oncotarget*, *7*(3), 3018-3032. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6576>

4. Influența mediului asupra controlului epigenetic

Pop Laura-Ancuța ¹

¹Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Introducere

În acest capitol vom descrie influența mediului asupra controlului epigenetic al diferitelor boli. Mediul înconjurător reprezintă toți factorii exteriori care pot influența o celulă, un țesut sau un organism. Cei mai studiați factori de mediu care influențează modificările epigenetice sunt metalele, poluarea aerului, benzenul, poluanții organici și radiațiile electromagnetice (Baccarelli & Bollati, 2009). Recent, s-a descoperit că alți factori de mediu influențează epigenomul, stresori psihosociali, comportamente și nutriție. Nagy et al au discutat efectul factorilor de mediu asupra modificărilor epigenetice și au concluzionat că apariția modificării epigenetice cauzate de acești factori este influențată de timpul și durata expunerii și, de asemenea, că aceste modificări pot fi transmise generației următoare (Nagy & Turecki, 2015). Această transmitere transgenerațională a modificărilor epigenetice este bine susținută în modelele animale (Aiken, Tarry-Adkins & Ozanne, 2016; Berger, 2012; Pang & Curran, 2012; Whitelaw & Whitelaw, 2008), încă la om este dificil de observat și evaluat.

Un alt factor important de mediu care influențează schimbările epigenetice este nutriția; Acest factor ne influențează viața de la gestație până la moarte și are un impact mare asupra sănătății noastre (Argente, Mehls & Barrios, 2010). De asemenea, un număr mare de cercetări au fost dedicate influenței stresului sau traumei asupra schimbărilor epigenetice și a bolilor (S. Jiang, Postovit, Cattaneo, Binder & Aitchison, 2019; Yao et al., 2017). Figura 1 prezintă toți factorii de mediu care influențează principalele modificări epigenetice care pot provoca boli sau modificări ale fenotipului organismului.

După cum se poate observa în figura 1, principalele tipuri de modificări epigenetice care pot fi afectate de factorii de mediu sunt metilarea ADN-ului, modificarea histonelor și ARN-urile non-codificatoare. În ceea ce privește metilarea ADN-ului, expunerea chimică, dieta, stresul sau toxinele pot modifica modelul de metilare a ADN-ului care, la rândul său, poate influența expresia genelor specifice. Poluarea, dieta sau modificările hormonale pot modifica acetilarea și metilarea histonelor, care, la rândul lor, pot influența expresia diferitelor gene prin afectarea modului în care ADN-ul este înfășurat în jurul histonelor.

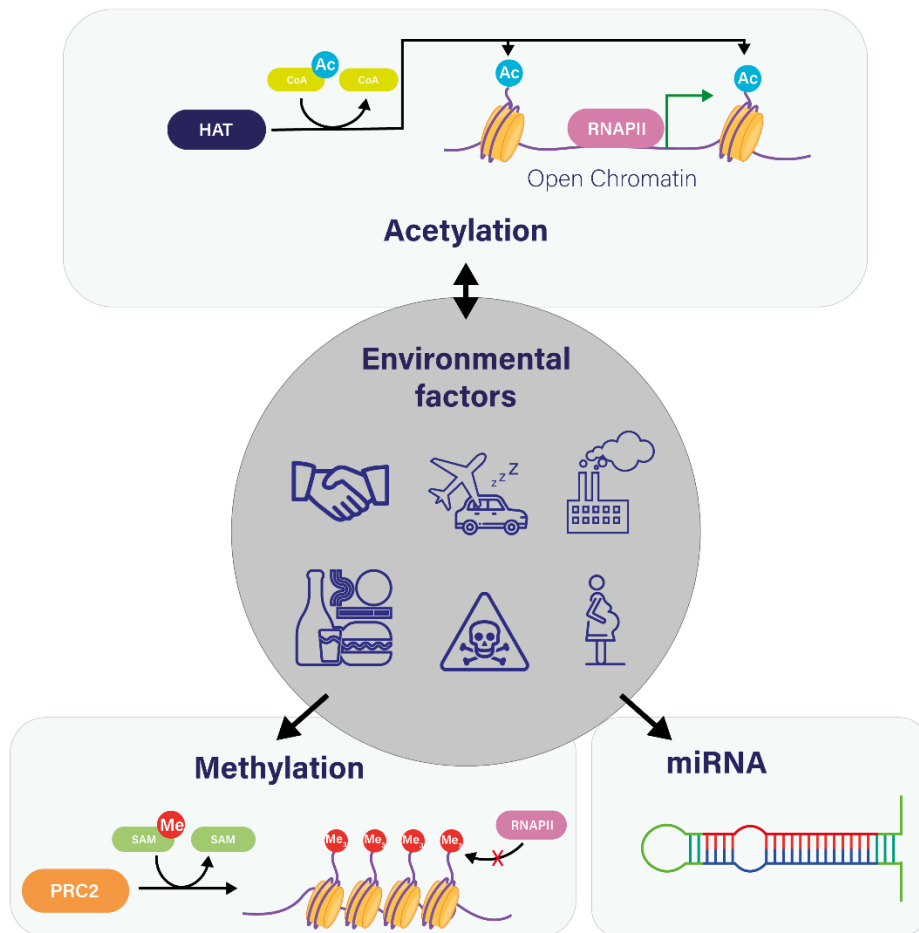


Figura 1. Principalii factori de mediu care influențează modificările epigenetice.

În cele din urmă, expresia ARN-urilor non-codificatoare poate fi afectată de toxine, dietă sau stres, afectând astfel expresia genelor reglate de ARN-urile non-codificatoare afectate.

4.1. Factori chimici și fizici de mediu

Este bine cunoscut faptul că modificările epigenetice sunt influențate de expunerea la diferite substanțe chimice, poluare, metale și radiații (Baccarelli & Bollati, 2009). Aici vom prezenta mai multe studii care descriu influența factorilor chimici și de mediu asupra markerilor epigenetici.

ARN-urile non-codificatoare sunt un marker epigenetic bine cunoscut care influențează expresia diferitelor gene care pot afecta bolile. Tani et al au observat că, prin expunerea celulelor renale și hepatice la diferite substanțe chimice sau radiații UV,

expresia ARN-ilor necodificatoare specific (GAS5, IDI2-AS1 și SNHG15) este afectată și acest lucru activează moartea celulelor (Tani & Torimura, 2015). Un studiu a descris efectul doxorubicinei asupra răspunsului transcripțional al genei p53, prin exprimarea lncARN-p21 (Saxena & Carninci, 2011). Huarte et al au observat, de asemenea, că lncARN-uri specifice sunt activate în reprimarea genei p53 (Huarte et al., 2010). Următoarele lncARN, MIR22HG, GABPB-AS1, LINC00152, IDI2-AS1, SNHG15 și FLJ33630, s-au dovedit a răspunde la factorii de stres chimici din celulele HeLa-Tet (Dan, Onuma, Ito & Torimura, 2014). Ligario și colaboratorii au arătat că, în prezența diferiților mutageni (benzo(a)piren diol epoxid, nitroimidazoli, fluoreni, naftalină, morfolină, stilbene, hidroxilamine, fecapentene, 1-etil-1-nitrozouree și 4-nitrozomorfelină) proteina DICER poate forma un complex mai stabil cu mutageni decât cu substratul său natural, ARN scurt dublu catenar, afectând astfel sinteza micro-ARN-ului și inducând modificări epigenetice (Ligorio, Izzotti, Pulliero & Arrigo, 2011).

Alți factori chimici de mediu care s-au dovedit a afecta epigenomul sunt metalele grele. Mai multe studii au identificat efectul diferitelor metale grele asupra factorilor epigenetici. Zhang și colaboratorii au observat că șoarecii hrăniți cu orez contaminat cu cadmiu prezintă concentrații mai mari de cadmiu renal și hipermetilarea promotorului mai multor gene, inclusiv CAS8 și IL-1β, gene legate de apoptoză și inflamație, în timp ce gena liniei medii 1 (gena implicată în neurodezvoltare) este hipometilată (S. N. Zhang et al., 2023). De asemenea, s-a observat că expunerea pe termen lung la cadmiu poate duce la probleme cognitive și că cadmiu interacționează cu Axa Gm10532/m6A/FIS1, care determină funcția mitocondrială (Deng et al., 2023). Există o mulțime de studii care corelează expunerea la metale cu modificările epigenetice la om, atât clinice, cât și *in vitro* sau *in vivo*. Unele dintre studiile clinice privind modificările epigenetice legate de expunerea la metale la nou-născuți sunt prezentate în Tabelul 1, în timp ce studiile *in vitro* și *in vivo* sunt prezentate în Tabelul 2.

Tabelul 1. Studii care discută expunerea la metale și modificările epigenetice la nou-născuți; (*hmC*, 5-hidroximetilcitozină; *5mC*, 5-metilcitozină; *IMC*, indice de masă corporală; *crea*, creatinină; *DMP*, poziții metilate diferențial, *GW*, săptămâna gestațională; *NHBCS*, Studiul de cohortă de naștere din New Hampshire; *RICHES*, Studiul privind sănătatea copilului din Rhode Island)

Ref	Proba biologică	z	Metal	Concentrație	Principalele constatări
				Mediana (p25–p75) sau media ± DS	
Modificări globale ale metilării ADN-ului					
(Weyde et al., 2021)	Sânge matern,	17–18 GW	Ca	2,23 ± 3,07 μg/ml	- valori crescute sau scăzute de 5mC la nou-

	652		CD	0,28 ± 0,26 µg/ml	nascut cu creşterea concentraţiei de Hg și Se - Concentraţia de Co a fost asociată cu niveluri de 5 mC
			Cs	2,18 ± 0,71 µg/ml	
			Co	0,21 ± 0,22 µg/ml	
			Cu	1462 ± 245 µg/ml	
			Hg	1,47 ± 1,04 µg/ml	
			Mg	27,5 ± 3,12 mg/ml	
			Mn	10,5 ± 7,81 µg/ml	
			Lu	1,25 ± 4,95 µg/ml	
			Se	94,7 ± 18,0 µg/ml	
			Pb	9,07 ± 9,04 µg/ml	
			Zn	4677 ± 826 µg/ml	
<u>(J. Park, Kim, Kim, Kim & Won, 2021)</u>	Sânge matern, 364	12–20 GW	Pb	13.04 (3.90–90.95) µg/La	11 DMP au fost asociate cu concentraţii de Pb la băieţi
		28–42 GW		12.47 (1.20–62.19) µg/La	- DMP a prezentat hipometilare
	Sângele din cordonul ombilical	naştere		9.13 (3.00–26.12) µg/La	
<u>(Kennedy et al., 2020)</u>	Placenta, NHBCS: 306	naştere	Cu	847,1 (602–2428,5) ng/g	- 9 DMR au fost asociate cu concentraţii de Cu
	RICHHS: 141			880,1 (623,1–2643,5) ng/g	- Genele zincfinger au fost supra reprezentate în aceste DMR
<u>(Montrose et al., 2020)</u>	Sânge neonatal, 96	24 h de la naştere	Pb	0,78 ± 0,85 µg/dl	- Hipometilarea ADN-ului în 33 de situsuri CpG a fost asociată cu concentraţii de Pb
<u>(Montes-Castro et al., 2019)</u>	Urina maternă, 181	naştere	Ca	22.94 (14.76–36.32) µg/g creaa	- Hipermetilarea LINE-1 a fost legată de As și Hg la concentraţii mai mici de Zn - Hipermetilarea LINE-1 a fost asociată cu concentraţii de Mn la concentraţii mici de Cu
			Cu	32.25 (21.18–47.67) µg/g creaa	
			Hg	16.44 (9.54–28.56) µg/g creaa	
			Mn	4.10 (3.00–6.63) µg/g creaa	
			Lu	36.37 (25.63–51.10) µg/g creaa	
			Pb	2.97 (2.04–5.84) ug/g creaa	
			Se	37.35 (33.44–69.49)	

				µg/g creaa	
			Zn	579.75 (360.43–875.29) µg/g creaa	
<u>(Todd M. Everson et al., 2017)</u>	Placenta, NHBCS: 343	naştere	CD	3,13 (2,61) ng/g	- Concentraţiile de cadmiu au fost asociate cu hipermetilarea a 17 situsuri CpG
	RICHs: 141			4,37 (2,71) ng/g	
<u>(Cowley et al., 2018)</u>	Sânge matern, timp de expunere mare: 10	12 GW	CD	0,16 (0,09–0,34) µg/dl	- la copiii mamelor cu concentraţii ridicate de cadmiu, au fost identificate 641 DMR localizate la genele implicate în funcţiile cardiovasculare şi metabolice
	timp de expunere scăzut: 10			0,01 (0,00–0,02) µg/dl	
<u>(Wu et al., 2017)</u>	Sânge matern, 268	28 GW	Pb	1,22 ± 0,63 µg/dl	- Concentraţiile ridicate de Pb au fost asociate cu niveluri mai scăzute de metilare a situsurilor CpG în rândul fetelor
<u>(Cardenas, Rifas-Shiman, Godderis et al., 2017)</u>	Sânge matern, 481	Trimestrul 2	Hg	3,23 (3,29) µg/g	- O creştere dublă a Hg a fost asociată cu o schimbare ridicată a 5mC/5hmC
<u>(Kaushal et al., 2017)</u>	Urina maternă, 64	28–38 GW	Ca	23.19 (21.2) µg/g creaa	-concentraţiile de As au fost asociate cu hipermetilarea situsurilor 347 CpG
<u>(Cárdenas et al., 2015)</u>	Urina maternă, 138	24–28 GW	Ca	0,07 (0,001–1,44) µg/g	- Hg şi As au fost asociate sinergic cu hipermetilarea ADN-ului
	Unghia maternă	2 săptămâni postpartum	Hg	3,19 (0,34–17,9) µg/l	
<u>(J. Z. Maccani, Koestler, Houseman et al., 2015)</u>	Unghie infantilă, 61	1 săptămână postpartum	Mn	0,131 până la 5,66 µg/g	Expunerea la Mn a fost asociată cu diferite modele de metilare a 713 loci în placentă (legate de neurodezvoltare, creşterea fetală şi gene legate de cancer)
<u>(Mohanty et al., 2015)</u>	Placenta, 24	naştere	CD	Fete, 5,0 (< 2,0–7,0) ng/g	- La fete, concentraţiile mari de cadmiu placentar

					au fost asociate cu hipometilarea <i>ARL9</i> , <i>SIAH3</i> , <i>HS3ST4</i> , <i>Crot</i> și <i>TP53TG1</i>
				Băieți, 2,0 (< 2,0–5,0) ng/g	- la băieți a fost observată hipometilarea în <i>MECOM</i> și <i>ARHGEF10</i> și a fost identificată hipermetilarea <i>SALL1</i>
(Sen, Heredia, Senut, Land et al., 2015)	Sânge matern, 35	naștere	Pb	Scăzut, < 5 μg/dLb	- la nepoții femeilor expuse în sarcină la concentrații ridicate de Pb, a fost observată o modificare transgenerațională a modelelor de metilare
	Sânge neonatal			Înaltă, > 5 μg/dLb	
(J. Z. Maccani, Koestler, Lester et al., 2015)	Unghie infantilă, 192	28 de luni după naștere	Hg	Scăzut, 0,05 până la 0,031 μg/gc	Expunerea la Hg a fost asociată cu o metilare diferențială a 339 de loci placentari legați de neurodezvoltare, neurogeneză și comportament
				Mediu, 0,032 până la 0,076 μg/g	
				Înaltă, între 0,077 și 0,425 μg/gc	
(Rojas et al., 2015)	Urina maternă, 38	naștere	Ca	32,57 (6,2–319,7) μg/L	- concentrațiile de As au fost asociate cu metilarea diferențiată a 2919 gene, majoritatea au fost hipermetilate când concentrația de As a crescut
(Broberg et al., 2014)	Urina maternă, 127	8 GW	Ca	66 (20–457) μg/Ld	- concentrațiile de As au fost asociate în principal cu hipometilarea ADN-ului la 8 și 30 GW. Asocierea mai puternică a fost observată la 8 GW. - o hipometilare mai ridicată a situsuri CpG au fost observată la băieți decât la fete
		30 GW		89 (18–562) μg/Ld	
(Sanders et al., 2014)	Sânge matern, 17	naștere	CD	0,44 ± 0,31 μg/l	- Concentrația de cadmiu a fost asociată cu 61 de gene metilate diferite; Cele mai multe dintre ele hipermetilate
(Kippler et al., 2013)	Urina maternă,	8 GW	Ca	68 (20–446) μg/Ld	- Concentrațiile de cadmiu au fost asociate cu o

	127		CD	0,77 (0,25–2,4) µg/Ld	metilare a ADN-ului specifică sexului - În rândul băieților, principalele modificări ale metilării ADN-ului au fost hipermetilarea genelor legate de moartea celulară - hipometilarea a fost observată mai frecvent în rândul fetelor; în genele legate de dezvoltarea organelor, morfologia osoasă și mineralizare
	Sânge matern	14 GW	CD	1,3 (0,54–3,1) µg/kg	
<u>(Koestler, Avissar-Whiting, Houseman, Karagas și Marsit, 2013)</u>	Urina maternă, 134	24–28 GW	Ca	4.1 (1.8-6.6) µg/L	- concentrațiile de As au fost asociate în principal cu hipermetilarea a 100 situsuri CpG în grupul cel mai expus la metale
<u>(Când et al., 2012)</u>	Urina maternă, 113	< 28 GW	Ca	1.01 ± 2.6 µg/g crea	- Concentrațiile ridicate de As au fost asociate cu creșterea metilării în LINE-1
<u>(Pilsner et al., 2012)</u>	Urina maternă, 101	naștere	Ca	271 ± 489.5 µg/g crea	- s-au observat diferențele în funcție de sex în asocierile dintre nivelurile As urinare materne și metilarea LINE-1. Hipermetilarea a fost observată la băieți și hipometilarea la fete
	Sânge matern			11,9 ± 8,6 µg/L	
	Sângele din cordonul ombilical			Băieți, 16,0 ± 9,9 µg/L	
				Fete, 15,3 ± 6,9 µg/L	

Modificări ale metilării ADN-ului specific genei

<u>(Yang et al., 2021)</u>	Sânge din cordonul ombilical, cazuri, 59	naștere	Pb	49,88 ng/g	- S-a constatat un efect semnificativ între concentrațiile Pb asupra metilării WNT3A
	Controale, 118			25,59 ng/g	
<u>(Zeng et al., 2019)</u>	Controale, 118	naștere	CD	0,29 ± 0,51 µg/l	- Concentrațiile Pb corelate cu hipermetilarea <i>BA1</i> și hipometilarea <i>CTNNA2</i>
			Cr	6,23 ± 5,92 µg/l	
			Mn	51,21 ± 16,43 µg/L	
			Pb	3,07 ± 0,84 µg/dl	

	Expuse: 101		CD	0,22 ± 0,21 µg/l	
			Cr	5,90 ± 3,30 µg/L	
			Mn	54,01 ± 21,88 µg/L	
			Pb	7,34 ± 2,69 µg/dl	
<u>(Montes-Castro et al., 2019)</u>	Urina maternă, 181	naștere	Ca	22.94 (14.76–36.32) µg/g creaa	- Corelația As, Pb și Hg cu hipermetilarea <i>Nrf2</i> este dependentă de nivelul Se. - As și Mo este asociat cu hipermetilarea <i>PARP1</i> - Mn a fost asociat cu hipermetilarea <i>OGG1</i>
			Cu	32.25 (21.18–47.67) µg/g creaa	
			Hg	16.44 (9.54–28.56) µg/g creaa	
			Mn	4.10 (3.00–6.63) µg/g creaa	
			Lu	36.37 (25.63–51.10) µg/g creaa	
			Pb	2.97 (2.04–5.84) µg/g creaa	
			Se	37.35 (33.44–69.49) µg/g creaa	
			Zn	579.75 (360.43–875.29) µg/g creaa	
<u>(Cardenas, Rifas-Shiman, Agha et al., 2017)</u>	Sânge matern, 321	Trimestrul 2	Hg	3,8 ± 3,1 ng/g	- Concentrația de Hg a fost asociată cu hipometilarea în 9 situsuri CpG ale genei <i>PON1</i> , în special la băieți
<u>(Appleton, Jackson, Karagas și Marsit, 2017)</u>	Unghie infantilă, 222	2,8 luni după naștere	Ca	0,06 ± 0,11 µg/g	- Concentrațiile mari de As, Cd, Pb, Mn și Hg au fost asociate cu hipermetilarea <i>NR3C1</i> în placentă - În plus, concentrațiile scăzute de Zn au fost asociate cu hipermetilarea <i>NR3C1</i>
			CD	0,08 ± 0,13 µg/g	
			Hg	0,07 ± 0,10 µg/g	
			Mn	0,98 ± 2,8 µg/g	
			Pb	0,94 ± 2,1 µg/g	
			Zn	299,6 ± 798,5 µg/g	
<u>(Phookphan et al., 2017)</u>	Unghiile nou-născute, control: 16	naștere	Ca	1,52 ± 0,38 µg/g	- concentrația de As a fost corelată cu nivelurile de metilare ale: <i>COX2</i> , <i>EGR1</i> și <i>SOCS3</i>
	Expus: 55			0,12 ± 0,04 µg/g	
<u>(T. M. Everson et al., 2016)</u>	Unghia maternă, 94	2,8 luni postpartum	CD	0,01 ± 0,02 µg/g	- Concentrația de cadmiu a fost invers asociată cu nivelul de metilare a două regiuni ale genei

					<i>PCDHAC1</i>
<u>(Vidal et al., 2015)</u>	Sânge matern, 319	12 GW	CD	Fete, 4,65 ± 5,53 ng/g	- Concentrația de cadmiu a fost asociată cu DMR a genei <i>PEG3</i> , în special la fete
				Băieți, 4,43 ± 6,66 ng/g	- Metilarea scăzută a ADN-ului la DMR <i>PLAGL1</i> a fost observată în rândul copiilor a căror mamă a fost expusă la niveluri ridicate de cadmiu și niveluri mai scăzute de Zn și Fe
<u>(Bakulski et al., 2015)</u>	Sânge din cordonul ombilical, 141	naștere	Hg	1,4 (1,0–2,0) µg/L	Fiecare creștere cu 10% a a concentrației de Hg în sângele din cordonul ombilical a fost asociată cu o reducere a procentului de metilare a genei <i>TCEANC2</i>
	Sânge din cordonul ombilical (ser)		Cu	39,7 (28,2–53,4) µg/dl	
			Se	70,0 (62,0–78,0) µg/dl	

modificări ale miARN

<u>(Rager et al., 2014)</u>	Urină maternă, 40	naștere	Ca	25,2 (6,2–319,7) µg/L	Creșterea expresiei Let-7a, miR-126, miR-16, miR-17, miR-20a/miR20b, miR-26b, miR-103, miR-454, miR107, miR-96, miR-98 a fost asociată cu expunerea la As

Tabelul 2. Studii *in vivo* și *in vivo* care prezintă efectul expunerii la metale grele asupra țesutului hepatic

Metale grele	Efect	Model <i>in vivo</i>	Rezultat	Ref
Plumb	Stresul oxidativ	Șobolan	Stresul oxidativ, peroxidarea lipidelor	(Hasanein, Ghafari-Vahed & Khodadadi, 2017; Patlolla, Barnes, Yedjou, Velma & Tchounwou, 2009)
	Modificări ultrastructurale	Șoareci femele	Deteriorarea ADN-ului	(A. P. Singh, Goel & Kaur, 2011; Vaziri & Khan, 2007)
		Adulți șobolani albinoși	Piknoză nucleară, organisme de incluziune juxtaniculară	(Hegazy & Fouad, 2014; Jarrar & Taib, 2012)
		Femele de	disfuncție mitocondrială,	(Ma et al., 2017)

		șobolan Wistar (mitocondrii hepatice)	peroxidarea lipidelor	
		Adulți șobolani masculi Wistar	dilatarea ER	(Liu, Zheng, Ming, Sun, & Cheng, 2013; D. Liu et al., 2013)
Funcțiile colesterolului hepatic		Șobolani masculi Wistar	reducerea metabolismului colesterolului,	(Liu, Ma & Sun, 2011)
			creșterea concentrațiilor plasmatice de colesterol	
Funcții metabolice		Șoareci masculi albinoși elvețieni	conținutul de acid piruvic a crescut, perturbarea mecanismelor legate de glicogen	(J. Das, Sarkar & Sil, 2015)
Hiperplazie hepatică		Wistar Albino Șobolani	celule binucleate, hiperplazia celulelor Kupffer, stresul oxidativ al hepatocitelor	(Jarrar și Taib, 2012; Mohammadi et al, 2013; Mudipalli, 2007)
Moartea celulelor		Șoareci femele	Apoptoza	(N. Singh, Kumar, Gupta & Sharma, 2018)
		Adulți șobolani masculi Wistar	Stresul oxidativ	(Liu, Ma & Sun, 2012)
Cadmiu	Stresul oxidativ	Șoareci	Produce daune oxidative	(Rani, Kumar, Lal & Pant, 2014; Renugadevi & Prabu, 2010)
	Modificări ultrastructurale (modificări ale nucleului și mitocondriale)	Șobolan	Inactivarea grupărilor tiol care duce la disfuncție mitocondrială și condensare în regiunea nucleolară	(Rani et al., 2014; Rikans & Yamano, 2000)
		Șobolani	O creștere a nivelurilor de TC (colesterol total), TG (trigliceride), MDA și LDL - C în ser, precum și o reducere a nivelului HDL - C	(Samarghandian et al., 2015)
	Hiperplazie hepatică	Șobolani	Administrarea cadmiului a dus la hiperplazia celulelor kupffer, hepatocite umflate etc.	(Köyü, Gökçimen, Özgüner, Bayram & Koçak, 2006; Mantur, Somannavarib, Yendigeri, Das & Goudar, 2014)

	Moartea celulelor	Șobolani	Cadmiul care activează aceste modificări a dus la apoptoza celulară.	(Rani et al., 2014; Xie & Shaikh, 2006)
		Pui și șobolani	Expunerea la cadmiu a dus la necroză, precum și la dilatarea sinusoidală	(Renugadevi & Prabu, 2010; Venter, Oberholzer, Taute, Cummings & Bester, 2015)
Crom	Stresul oxidativ	Șobolani Sprague-Dawley și hepatocite L-02 (linie celulară umană)	Radicalii organici sunt formați de speciile ROS datorită reducerii cromului. De asemenea, cromul restricționează activitatea complexelor lanțului respirator mitocondrial (MRCC1 și MRCC2), ceea ce duce la producerea ROS.	(Patlolla et al., 2009; Xiao et al., 2012)
	Modificări ultrastructurale (modificări ale nucleului și mitocondriale)	Celule HepG2 (linie celulară umană) și hepatocite L-02 (linie celulară umană)	Induce disfuncția mitocondrială, modifică fiziunea / fuziunea mitocondrială și provoacă depolarizarea membranei mitocondriale	(H. Zhang et al., 2017; Y. Zhang et al., 2019; Y. Zhang et al., 2017; Zhong, da Silveira e Sá & Zhong, 2017)
	Funcțiile colesterolului hepatic	capră	S-a observat că nivelurile scăzute de crom duc la niveluri ridicate de colesterol și trigliceride; a fost observată, de asemenea, o scădere a lipoproteinelor cu densitate mare (HDL). Genele SCD1 (stearoyl-CoA) și lipoprotein lipază (LPL) au prezentat o ușoară reglare. Puține alte gene, cum ar fi fACC1, LEP, FABP4, HSL, DGAT1 și FAS, au prezentat o ușoară scădere a expresiei lor.	(Ngala, Awe & Nsiah, 2018)
	Funcții metabolice	Oreochromis spp.	Rezultatele au arătat că concentrația de glicogen din ficat a scăzut.	(Abbas & Ali, 2007)
		Șobolani Wistar	Concentrația de glicogen a scăzut datorită adăugării	(Acharya, Mehta, Krishnan & Rao,

			de crom	<u>2001)</u>
	Hiperplazie hepatică	Celule HepG2 (linie celulară umană)	A dus la leziuni citologice, rupturi ale ADN-ului, condensare nucleară, ruptură a nucleului, degenerare tisulară, necroză celulară și creșterea masei celulare neregulate	<u>(Zhong et al., 2017)</u>
	Moartea celulelor	Macrofage purină J774	Cauzează oprirea ciclului celular care duce la apoptoza celulară	<u>(Castro et al., 2014; Rana, 2008)</u>
		Hepatocite L-02 (linie celulară)	activarea apoptoza celulară	<u>(Yan et al., 2020)</u>
		Piaractusmesop otamicus (pește)	activarea în necroza celulară	<u>(J. Das et al., 2015)</u>
		Șoareci	CSH au fost activate de liganzii Hh (Hedgehog) prin semnalizarea Hh dată de celulele hepatice afectate de crom, ducând la fibroza celulară	<u>(Xiao et al., 2012)</u>
Arsen	Stresul oxidativ	Șobolani Sprague-Dawley	peroxidarea lipidelor	<u>(Z. Xu et al., 2013)</u>
	Modificări ultrastructurale	Wistar șobolan (mitocondrii)	umflarea mitocondriilor, potențialul colaps al membranei mitocondriale	<u>(Hosseini, Shaki, Ghazi-Khansari & Pourahmad, 2013)</u>
		Șobolani Sprague Dawley	afectarea celulelor și apoptoza, afectarea plierii proteinelor	<u>(Bambino et al., 2018; Dong et al., 2020)</u>
		Pisici chinezești Dragon-Li	creșterea vacuolizării citoplasmei și a necrozei focale	<u>(Z. Zhang et al., 2014)</u>
	Funcțiile colesterolului hepatic	Masculi albișoși de șobolani	Dislipidemie, Hipocolesterolemie	<u>(Afolabi et al., 2015)</u>
		Masculi albișoși de șobolani	hipertrigliceridemie	
	Funcții metabolice	Pește zebra	NA	<u>(Caixia Li et al., 2016)</u>
	Hiperplazie hepatică	Păstrăv	Leziuni non-neoplazice	<u>(Kotsanis & Iliopoulou - Georgudaki, 1999)</u>
		Șoareci elvețieni	Leziuni proliferative	<u>(Waalkes, Keefer & Diwan, 2000)</u>
	Moartea celulelor	Șoareci	deteriorarea ADN-ului și a cauzat arestarea celulelor	<u>(Dong et al., 2020; Fouad, Al-Mulhim & Jresat, 2012)</u>

Mercur	Stresul oxidativ	<i>Bryconamazonicus</i> , un pește de apă dulce	perturbări ale sistemului antioxidant de apărare și peroxidare a lipidelor	(Monteiro, Rantin & Kalinin, 2010)
	Modificări ultrastructurale	femele de șobolan	degenerarea mitocondriilor	(Yahyazedeh, Altunkaynak, Akgül & Akgül, 2017)
		hepatocite	modificări ale structurii hepatice	(Pal, Pal, Das & Sil, 2012)
			creșterea fosforilării NF-κB în asociere cu fosforilarea IKKα și degradarea IκBα	
	Funcțiile colesterolului hepatic	Șobolani masculi	necroză	(Wadaan, 2009)
	Moartea celulelor	Tulpina Sprague Dawley de șobolani masculi	Apoptoza	(Patnaik, Roy, Agarwal & Bhattacharya, 2010)
Nichel	Stresul oxidativ	<i>Carassius auratus</i>	creșterea nivelului peroxidării lipidelor, apoptoza	(G. H. Zheng, Liu, Sun, Feng & Cheng, 2014)
	Modificări ultrastructurale	Linii celulare de neuroblastom de șoarece	creșterea producției de specii reactive de oxigen (ROS) și a nivelurilor de superoxid mitocondrial	(S. C. Xu et al., 2011)
	Funcțiile colesterolului hepatic	Șobolani wister	colesterolul crește în ficat	(K. K. Das et al., 2006)
	Hiperplazie hepatică	Șobolani	efect degenerativ asupra țesutului hepatic,	(K. K. Das & Buchner, 2007)
			Hipertrofia celulelor Kupffer	
Moartea celulelor	șobolani gestați	vacuolizare, steatoză și necroză focală	(Adjroud, 2013)	

Expunerea la arsen a fost corelată cu diferite modificări epigenetice datorate modificării metilării ADN-ului (Benbrahim-Tallaa et al., 2005; Zhao, Young, Diwan, Coogan & Waalkes, 1997). De asemenea, s-a observat că expunerea la arsen poate induce modificarea H3K4me3, H3K9ac și H3K27me3 (Chervona, Arita, & Costa, 2012; Tyler, Hafez, Solomon & Allan, 2015; Tyler, Weber et al., 2015; Zhou, Sun, Ellen, Chen & Costa, 2008). În timpul sarcinii, expunerea la arsen poate induce modificarea metilării ADN-ului în sângele din cordonul ombilical (Cardenas et al., 2015; Kile et al., 2014) sau în gene din celulele albe din sânge (Argos et al., 2015) sau placentă (Green et al., 2016). La adulți, expunerea la arsen a fost corelată cu modificări ale metilării ADN-

ului în gene precum LINE-1 (Tajuddin et al., 2013; Wilhelm et al., 2010), p16 (Lu et al., 2014) sau RASSF1A (Marsit, Karagas, Schned & Kelsey, 2006), dar și cu modificări ale histone post-tranlaționale globale, cu o corelație directă cu H3K9me2 și o corelație inversă cu H3K9ac (Chervona, Hall et al., 2012). Chiar dacă efectul expunerii la arsen este bine studiat, nu există încă informații privind mecanismele de acțiune ale arsenului asupra metilării ADN-ului. Un studiul *in vitro* propune o pierdere a metilării ADN-ului prin epuizarea SAM după expunerea la arsen (Reichard, Schnekenburger & Puga, 2007). Unele studii au legat expunerea la arsen de creșterea activării MSK1 și fosforilarea H3S10, care sunt corelate cu inducerea c-fos și c-jun, două proto-oncogene (M. B. Cheng et al., 2014; Iarna et al., 2008).

Cadmiul este un alt metal găsit în mediul înconjurător în alimente contaminate, apă, praf sau aer înconjurător. Este, de asemenea, acumulat în frunzele de tutun și ca produs secundar în industrie, ca producerea de baterii ("Arsenic, metale, fibre și pulberi", 2012). Expunerea la cadmiu a fost corelată cu cancerul, problemele renale, fracturile osoase sau dezvoltarea fătului (Järup & Åkesson, 2009; Kippler et al., 2012). Toate aceste efecte nocive produse de cadmiu se datorează inducerea stresului oxidativ, inhibarea mecanismelor de reparare a ADN-ului, reducerea apoptozei (Đukić-Ćosić, Baralić, Javorac, Djordjevic & Bulat, 2020; Matović, Buha, Đukić-Ćosić & Bulat, 2015), perturbarea căilor endocrine (Buha et al., 2018) sau inhibarea metiltransferazelor (Martinez-Zamudio & Ha, 2011; Suzuki et al., 2017). S-a observat că expunerea cronică la cadmiu duce la creșterea activității DNMT1 (G. Jiang et al., 2008) și expresia redusă a genelor RASSF1A și P16 (Chen, DesMarais & Costa, 2019; Luevano & Damodaran, 2014), în timp ce expunerea pe termen scurt la cadmiu a fost corelată cu inhibarea DNMT1 și hipometilarea ADN-ului (Doi, Puri, McCann, Bannigan & Thompson, 2011; Martinez-Zamudio & Ha, 2011). Expunerea la cadmiu a fost asociată cu diferite tipuri de cancer, cum ar fi cancerul de sân (Anđelković et al., 2021), leucemie mieloidă sau adenocarcinom ductal pancreatic (Mortoglou et al., 2021), care se datorează activării mai multor oncogene, C-Myc, C-Jun sau C-FOS și suprimării P53 și P27, care sunt gene supresoare de tumoră (Fang, Mar & Cho, 2002; Spruill, Cântec, Whong & Ong, 2002).

Plumbul (Pb) este un metal greu care este utilizat în industrie, în principal în fabricarea produselor de consum, a bateriilor și în construcțiile de clădiri (Levin et al., 2008). Plumbul este considerat un metal toxic, deoarece poate interfera cu o mulțime de procese fiziologice și poate induce mai multe boli. S-a observat că expunerea la plumb a mamei poate reduce neurodezvoltarea copilului (Bellinger, 2008; Lin et al., 2013), induce modificări specifice genului (Sen, Heredia, Senut, Hess et al., 2015) sau modificări cardiace (Svoboda et al., 2023). Expunerea la plumb a fost asociată cu hipometilarea repetărilor LINE1 și Alu (C. Li, Yang, Xu, Zhang și Sun, 2013; Wright et al.,

2010; Yohannes et al., 2022), modificarea generală a profilului de metilare a ADN-ului și a metilării specifice genelor (Hanna et al., 2012; T. Wang et al., 2023).

Mercurul (Hg) este un metal reactiv care se găsește în diferite articole, cum ar fi baterii, amalgame dentare, termostate, produse medicale, becuri fluorescente și termometre. Chiar dacă este folosit în unele produse, oamenii sunt expuși în principal la Hg din pește și crustacee, care acumulează Hg în corpul lor. Efectele expunerii la Hg sunt numeroase și sunt legate în principal de cancer, efecte imunotoxice, boli renale și cardiovasculare (Hong, Kim & Lee, 2012; Karagas et al., 2012; J. D. Park & Zheng, 2012). La sugari, expunerea prenatală la Hg a fost asociată cu modificări ale metilării ADN-ului și reducerea celulelor imune (Bakulski et al., 2015; Cardenas et al., 2015). La adulți, expunerea la Hg a fost asociată cu modificări ale metilării genelor GSTM14 (Hanna et al., 2012) și SEPP1 (Goodrich, Basu, Franzblau & Dolinoy, 2013). De asemenea, expunerea cronică la Hg a celulelor LUHMES vii a fost asociată cu creșterea nivelurilor de proteine ale DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, H3K27me3, HDAC3 și HDAC6 și scăderea nivelurilor de Ach3 și Ach3K14 (Go et al., 2021).

Deși cea mai mare parte a modificărilor epigenetice legate de expunerea la metale este legată de metilare a ADN-ului sau modificarea histonei, există unele studii care observă modificări ale profilului miARN după expunerea la mercur, cadmiu, plumb sau arsen. Dintre aceste miARN cele mai frecvent observate sunt familia Let-7, miR-16, miR-17, miR-19, miR-20, miR-22, miR-24, miR-26b, miR-29a, miR-30, miR-34a, miR-96, miR-98, miR-107, miR-126, miR-195, miR-200b, miR-210, miR-221, miR-222, miR-454, miR-15b, miR-23b, miR-101, miR-144, miR-130a, miR-361-5p, miR-455-3p, miR-1233, miR-1275, miR-143, miR-222 și miR-3940-5p (Ryu et al., 2015; Sanders et al., 2015).

Alți factori chimici și fizici de mediu care influențează epigenomul sunt poluanții atmosferici, azbestul, perturbatorii endocrini sau radiațiile. Cel mai adesea poluanții atmosferici observați sunt cei legați de trafic, particulele din industria siderurgică sau negrul de fum. Fiecare dintre aceste substanțe a fost asociată cu modificări ale epigenomului, cum ar fi metilarea ADN-ului în genele inflamatorii și de imunitate (Hou et al., 2014; Lepeule et al., 2014), metilarea promotorului (Tarantini et al., 2009), metilarea globală a ADN-ului (Baccarelli & Ghosh, 2012; Messingschlager et al., 2023) sau modificarea expresiei miARN (Furci et al., 2023; Jardim, Fry, Jaspers, Dailey & Diaz-Sanchez, 2009; Vrijens, Bollati & Nawrot, 2015). Expunerea la azbest a fost corelată cu mezoteliom malign și cancer pulmonar (Bogen, 2023), în principal datorită metilării promotorilor a mai multor gene, cum ar fi *APC*, *CCND2*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *ESR1*, *HPPBP1*, *RASSF1*, *SLC6A20*, *SYK* și *ZIC1* (Y. Y. Cheng et al., 2013; Christensen et al., 2008; Tsou et al., 2005), dar și la modificările expresiei miARN (Di Mauro et al., 2023). Perturbatorii endocrini sunt substanțe chimice care pot afecta sistemul

endocrin și sunt compuși din pesticide, erbicide, substanțe chimice industriale, erbivide și hormoni vegetali (Fernández et al., 2014). Dintre toate acestea, cel mai studiat este bisfenolul A (BPA), care se găsește în materialele plastice și s-a dovedit că afectează infertilitatea și susceptibilitatea la cancer (Besaratina, 2023; Newbold, Jefferson & Padilla-Banks, 2009). Studiile au arătat că expunerea la BPA crește metilarea ADN-ului LAMP-3, Nsbp1, Hpcal1 (Tang et al., 2012; Weng et al., 2010), PGC-1 α (Y. Jiang et al., 2015), *SNRPN*, *Ube3a*, *IGF2*, *Kcnq1ot1*, *Cdkn1c* și *ASCL2* (Mao et al., 2015) sau poate crește nivelurile de trimetilare a histonei H3 (Doherty, Bromer, Zhou, Aldad & Taylor, 2010). Expunerea la lumina ultravioletă (UV) a fost asociată cu cancerul de piele (Narayanan, Saladi și Fox, 2010) și are un efect major asupra stresului oxidativ (X. Zhang, Rosenstein, Wang, Lebwohl & Wei, 1997), deteriorarea ADN-ului (Ichihashi et al., 2003) și modificări ale sistemului imunitar (Katiyar, 2007). Efectul UV asupra epigenomului este observat în creșterea activității de metilării aberante a Cip1/p21, p16INK4a (Katiyar, Singh, Prasad, Sun și Vaid, 2012), RB1/p16 și p53 (Murao, Kubo, Ohtani, Hara & Arase, 2006).

4.2. Obiceiuri nesănătoase

Obiceiurile noastre au un impact mare asupra sănătății noastre, cele mai multe studii privind obiceiurile nesănătoase studiate sunt fumatul și băutul. Expunerea la fumat s-a dovedit a fi cel mai important factor de risc în timpul sarcinii și a fost corelată cu modificarea profilului de metilare a ADN-ului, efecte care sunt prezente și în cazul copiilor expuși la fumul de tutun în timpul sarcinii (Breton et al., 2009; Suter, Anders & Aagaard, 2013). La adulți, fumatul a fost asociat cu cancerul (Ottini et al., 2015) și, de asemenea, s-a observat că afectează diferite sisteme, cum ar fi sisteme celulare, hematologice, cardiovasculare, imune, de detoxifiere, tumorigene și de reproducere (Besingi și Johansson, 2014; Joubert et al., 2012; Monick et al., 2012; Zeilinger et al., 2013). Expunerea la fumul de tutun a fost, de asemenea, asociată cu modificarea reglării histonelor, prin scăderea H4k16ac și creșterea nivelurilor H3k27me3 (Hussain et al., 2009) și modificări ale metilării ADN-ului (H. Wang et al., 2023). Dereglarea miARN a fost asociată cu expunerea la fumul de tutun și miARN precum miR-16, miR-21, miR-146a, miR-218, miR-34b, miR-125b, miR-223, miR-340 sau miR-31 au avut expresie modificată (M. A. Maccani et al., 2010; Minervini et al., 2023; Schembri et al., 2009; Vrijens et al., 2015; Xi et al., 2010).

Consumul de alcool în concentrație ridicată este, de asemenea, cunoscut că afectează sănătatea. Studiile au arătat că consumul de alcool se corelează cu hipometilarea LINE1 (Schernhammer et al., 2010) sau alte modificări ale metilării ADN-ului diferitelor gene, CYP2E sau situsurilor CpG (Smith, Mydlarz, Mithani și

Califano, 2007; Q. Zheng, Wang, Yan, Yin și Qiao, 2023). De asemenea, dereglarea mai multor miARN a fost corelată cu consumul de alcool (Bala și Szabo, 2012; Yakovlev et al., 2023), dar a fost observată și creșterea acetilării histonelor H3 și H4 și H3k4me3 (Aroor, Restrepo, Kharbanda, și Shukla, 2014; Domi, Barchiesi și Barbier, 2023).

Recent, stresul este considerat un alt factor care poate influența sănătatea individuală prin modificarea diferiților markeri epigenetici. S-a observat că stresul din viața timpurie este asociat cu modificarea profilului de metilare a ADN-ului diferitelor gene, cum ar fi gena receptorului glucocorticoizi (van der Knaap et al., 2014) și receptorul serotoninei 1A (Galfalvy et al., 2023) și poate crește H3K4me3 și poate scădea nivelurile H3K9me3 (Cui, Dard, Reichheld și Zhou, 2023; Hunter, McCarthy, Milne, Pfaff și McEwen, 2009).

Concluzie și direcții viitoare

Factorii de mediu s-au dovedit a fi foarte importanți în controlul epigenetic al diferitelor boli și, chiar dacă acești factori sunt foarte bine studiați, mecanismul lor exact de acțiune în fiecare boală particulară nu este încă cunoscut. O mulțime de studii sunt legate de expunerea la factori de mediu a mamei și efectul acestora asupra sănătății copilului, în continuare există o mulțime de factori necunoscuți care trebuie luați în considerare în această relație. După cum s-a observat mai sus, expunerea la mediu nu afectează doar un singur tip de biomarker epigenetic, ci în majoritatea cazurilor afectează toți biomarkerii, metilarea ADN-ului, modificările histonelor și expresia miARN, ceea ce face mai dificilă prevenirea sau tratarea efectului acestei expuneri.

Bibliografie

- Abbas, H. H., & Ali, F. K. (2007). Study the effect of hexavalent chromium on some biochemical, cytotoxicological and histopathological aspects of the *Oreochromis* spp. fish. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *10*(22), 3973-3982. doi:10.3923/pjbs.2007.3973.3982
- Acharya, S., Mehta, K., Krishnan, S., & Rao, C. V. (2001). A subtoxic interactive toxicity study of ethanol and chromium in male Wistar rats. *Alcohol*, *23*(2), 99-108. doi:10.1016/S0741-8329(00)00139-7
- Adjroud, O. (2013). The toxic effects of nickel chloride on liver, erythropoiesis, and development in Wistar albino preimplanted rats can be reversed with selenium pretreatment. *Environmental Toxicology*, *28*(5), 290-298. doi:10.1002/tox.20719
- Afolabi, O. K., Wusu, A. D., Ogunrinola, O. O., Abam, E. O., Babayemi, D. O., Dosumu, O. A., . . . Ademuyiwa, O. (2015). Arsenic-induced dyslipidemia in male albino rats:

comparison between trivalent and pentavalent inorganic arsenic in drinking water. *BMC Pharmacology and Toxicology*, *16*, 1-15.

- Aiken, C. E., Tarry-Adkins, J. L., & Ozanne, S. E. (2016). Transgenerational effects of maternal diet on metabolic and reproductive ageing. *Mamm Genome*, *27*(7-8), 430-439. doi:10.1007/s00335-016-9631-1
- Anđelković, M., Djordjevic, A. B., Miljaković, E. A., Javorac, D., Čolaković, N., Oprić, S., . . . Bulat, Z. (2021). Cadmium tissue level in women diagnosed with breast cancer - A case control study. *Environ Res*, *199*, 111300. doi:10.1016/j.envres.2021.111300
- Appleton, A. A., Jackson, B. P., Karagas, M., & Marsit, C. J. (2017). Prenatal exposure to neurotoxic metals is associated with increased placental glucocorticoid receptor DNA methylation. *Epigenetics*, *12*(8), 607-615. doi:10.1080/15592294.2017.1320637
- Argente, J., Mehls, O., & Barrios, V. (2010). Growth and body composition in very young SGA children. *Pediatr Nephrol*, *25*(4), 679-685. doi:10.1007/s00467-009-1432-2
- Argos, M., Chen, L., Jasmine, F., Tong, L., Pierce, B. L., Roy, S., . . . Ahsan, H. (2015). Gene-specific differential DNA methylation and chronic arsenic exposure in an epigenome-wide association study of adults in Bangladesh. *Environ Health Perspect*, *123*(1), 64-71. doi:10.1289/ehp.1307884
- Aroor, A. R., Restrepo, R. J., Kharbanda, K. K., & Shukla, S. D. (2014). Epigenetic histone modifications in a clinically relevant rat model of chronic ethanol-binge-mediated liver injury. *Hepatol Int*, *8 Suppl 2*, 421-430. doi:10.1007/s12072-014-9546-4
- Arsenic, metals, fibres, and dusts. (2012). *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, *100*(Pt C), 11-465.
- Baccarelli, A., & Bollati, V. (2009). Epigenetics and environmental chemicals. *Curr Opin Pediatr*, *21*(2), 243-251. doi:10.1097/mop.0b013e32832925cc
- Baccarelli, A., & Ghosh, S. (2012). Environmental exposures, epigenetics and cardiovascular disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, *15*(4), 323-329. doi:10.1097/MCO.0b013e328354bf5c
- Bakulski, K. M., Lee, H., Feinberg, J. I., Wells, E. M., Brown, S., Herbstman, J. B., . . . Fallin, M. D. (2015). Prenatal mercury concentration is associated with changes in DNA methylation at TCEANC2 in newborns. *Int J Epidemiol*, *44*(4), 1249-1262. doi:10.1093/ije/dyv032
- Bala, S., & Szabo, G. (2012). MicroRNA Signature in Alcoholic Liver Disease. *Int J Hepatol*, *2012*, 498232. doi:10.1155/2012/498232
- Bambino, K., Zhang, C., Austin, C., Amarasiriwardena, C., Arora, M., Chu, J., & Sadler, K. C. (2018). Inorganic arsenic causes fatty liver and interacts with ethanol to cause alcoholic liver disease in zebrafish. *Disease models & mechanisms*, *11*(2), dmm031575.

- Bellinger, D. C. (2008). Lead neurotoxicity and socioeconomic status: conceptual and analytical issues. *Neurotoxicology*, *29*(5), 828-832. doi:10.1016/j.neuro.2008.04.005
- Benbrahim-Tallaa, L., Waterland, R. A., Styblo, M., Achanzar, W. E., Webber, M. M., & Waalkes, M. P. (2005). Molecular events associated with arsenic-induced malignant transformation of human prostatic epithelial cells: aberrant genomic DNA methylation and K-ras oncogene activation. *Toxicol Appl Pharmacol*, *206*(3), 288-298. doi:10.1016/j.taap.2004.11.017
- Berger, S. L. (2012). Transgenerational inheritance of longevity: epigenetic mysteries abound. *Cell Metab*, *15*(1), 6-7. doi:10.1016/j.cmet.2011.12.012
- Besaratinia, A. (2023). The State of Research and Weight of Evidence on the Epigenetic Effects of Bisphenol A. *Int J Mol Sci*, *24*(9). doi:10.3390/ijms24097951
- Besingi, W., & Johansson, A. (2014). Smoke-related DNA methylation changes in the etiology of human disease. *Hum Mol Genet*, *23*(9), 2290-2297. doi:10.1093/hmg/ddt621
- Bogen, K. T. (2023). Ultrasensitive dose-response for asbestos cancer risk implied by new inflammation-mutation model. *Environ Res*, *230*, 115047. doi:10.1016/j.envres.2022.115047
- Breton, C. V., Byun, H. M., Wenten, M., Pan, F., Yang, A., & Gilliland, F. D. (2009). Prenatal tobacco smoke exposure affects global and gene-specific DNA methylation. *Am J Respir Crit Care Med*, *180*(5), 462-467. doi:10.1164/rccm.200901-0135OC
- Broberg, K., Ahmed, S., Engström, K., Hossain, M. B., Jurkovic Mlakar, S., Bottai, M., . . . Vahter, M. (2014). Arsenic exposure in early pregnancy alters genome-wide DNA methylation in cord blood, particularly in boys. *J Dev Orig Health Dis*, *5*(4), 288-298. doi:10.1017/s2040174414000221
- Buha, A., Matovic, V., Antonijevic, B., Bulat, Z., Curcic, M., Renieri, E. A., . . . Wallace, D. (2018). Overview of Cadmium Thyroid Disrupting Effects and Mechanisms. *Int J Mol Sci*, *19*(5). doi:10.3390/ijms19051501
- Cardenas, A., Koestler, D. C., Houseman, E. A., Jackson, B. P., Kile, M. L., Karagas, M. R., & Marsit, C. J. (2015). Differential DNA methylation in umbilical cord blood of infants exposed to mercury and arsenic in utero. *Epigenetics*, *10*(6), 508-515. doi:10.1080/15592294.2015.1046026
- Cardenas, A., Rifas-Shiman, S. L., Agha, G., Hivert, M. F., Litonjua, A. A., DeMeo, D. L., . . . Baccarelli, A. A. (2017). Persistent DNA methylation changes associated with prenatal mercury exposure and cognitive performance during childhood. *Sci Rep*, *7*(1), 288. doi:10.1038/s41598-017-00384-5
- Cardenas, A., Rifas-Shiman, S. L., Godderis, L., Duca, R. C., Navas-Acien, A., Litonjua, A. A., . . . Baccarelli, A. A. (2017). Prenatal Exposure to Mercury: Associations with

Global DNA Methylation and Hydroxymethylation in Cord Blood and in Childhood. *Environ Health Perspect*, 125(8), 087022. doi:10.1289/ehp1467

- Castro, M. P., De Moraes, F. R., Fujimoto, R. Y., Da Cruz, C., De Andrade Belo, M. A., & De Moraes, J. R. E. (2014). Acute toxicity by water containing hexavalent or trivalent chromium in native Brazilian fish, *Piaractus mesopotamicus*: Anatomopathological alterations and mortality. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92(2), 213-219. doi:10.1007/s00128-013-1174-5
- Chen, Q. Y., DesMarais, T., & Costa, M. (2019). Metals and Mechanisms of Carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 59, 537-554. doi:10.1146/annurev-pharmtox-010818-021031
- Cheng, M. B., Zhang, Y., Cao, C. Y., Zhang, W. L., Zhang, Y., & Shen, Y. F. (2014). Specific phosphorylation of histone demethylase KDM3A determines target gene expression in response to heat shock. *PLoS Biol*, 12(12), e1002026. doi:10.1371/journal.pbio.1002026
- Cheng, Y. Y., Kirschner, M. B., Cheng, N. C., Gattani, S., Klebe, S., Edelman, J. J., . . . Reid, G. (2013). ZIC1 is silenced and has tumor suppressor function in malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Oncol*, 8(10), 1317-1328. doi:10.1097/JTO.0b013e3182a0840a
- Chervona, Y., Arita, A., & Costa, M. (2012). Carcinogenic metals and the epigenome: understanding the effect of nickel, arsenic, and chromium. *Metallomics*, 4(7), 619-627. doi:10.1039/c2mt20033c
- Chervona, Y., Hall, M. N., Arita, A., Wu, F., Sun, H., Tseng, H. C., . . . Costa, M. (2012). Associations between arsenic exposure and global posttranslational histone modifications among adults in Bangladesh. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 21(12), 2252-2260. doi:10.1158/1055-9965.Epi-12-0833
- Christensen, B. C., Godleski, J. J., Marsit, C. J., Houseman, E. A., Lopez-Fagundo, C. Y., Longacker, J. L., . . . Kelsey, K. T. (2008). Asbestos exposure predicts cell cycle control gene promoter methylation in pleural mesothelioma. *Carcinogenesis*, 29(8), 1555-1559. doi:10.1093/carcin/bgn059
- Cowley, M., Skaar, D. A., Jima, D. D., Maguire, R. L., Hudson, K. M., Park, S. S., . . . Hoyo, C. (2018). Effects of Cadmium Exposure on DNA Methylation at Imprinting Control Regions and Genome-Wide in Mothers and Newborn Children. *Environ Health Perspect*, 126(3), 037003. doi:10.1289/ehp2085
- Cui, X., Dard, A., Reichheld, J. P., & Zhou, D. X. (2023). Multifaceted functions of histone deacetylases in stress response. *Trends Plant Sci*. doi:10.1016/j.tplants.2023.06.006

- Das, J., Sarkar, A., & Sil, P. C. (2015). Hexavalent chromium induces apoptosis in human liver (HepG2) cells via redox imbalance. *Toxicology Reports*, 2, 600-608. doi:10.1016/j.toxrep.2015.03.013
- Das, K. K., & Buchner, V. (2007). Effect of nickel exposure on peripheral tissues: Role of oxidative stress in toxicity and possible protection by ascorbic acid. *Reviews on Environmental Health*, 22(2), 157-173. doi:10.1515/REVEH.2007.22.2.157
- Das, K. K., Gupta, A. D., Dhundasi, S. A., Patil, A. M., Das, S. N., & Ambekar, J. G. (2006). effect of l-ascorbic acid on nickel-induced alterations in serum lipid profiles and liver histopathology in rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 17(1), 29-44. doi:10.1515/JBCPP.2006.17.1.29
- Deng, P., Zhang, H., Wang, L., Jie, S., Zhao, Q., Chen, F., . . . Zhou, Z. (2023). Long-term cadmium exposure impairs cognitive function by activating Inc-Gm10532/m6A/FIS1 axis-mediated mitochondrial fission and dysfunction. *Sci Total Environ*, 858(Pt 3), 159950. doi:10.1016/j.scitotenv.2022.159950
- Di Mauro, G., Frontini, F., Torreggiani, E., Iaquinta, M. R., Caselli, A., Mazziotta, C., . . . Tognon, M. (2023). Epigenetic investigation into circulating microRNA 197-3p in sera from patients affected by malignant pleural mesothelioma and workers exposed to asbestos. *Sci Rep*, 13(1), 6501. doi:10.1038/s41598-023-33116-z
- Doherty, L. F., Bromer, J. G., Zhou, Y., Aldad, T. S., & Taylor, H. S. (2010). In utero exposure to diethylstilbestrol (DES) or bisphenol-A (BPA) increases EZH2 expression in the mammary gland: an epigenetic mechanism linking endocrine disruptors to breast cancer. *Horm Cancer*, 1(3), 146-155. doi:10.1007/s12672-010-0015-9
- Doi, T., Puri, P., McCann, A., Bannigan, J., & Thompson, J. (2011). Epigenetic effect of cadmium on global de novo DNA hypomethylation in the cadmium-induced ventral body wall defect (VBWD) in the chick model. *Toxicol Sci*, 120(2), 475-480. doi:10.1093/toxsci/kfr022
- Domi, E., Barchiesi, R., & Barbier, E. (2023). Epigenetic Dysregulation in Alcohol-Associated Behaviors: Preclinical and Clinical Evidence. *Curr Top Behav Neurosci*. doi:10.1007/7854_2022_410
- Dong, N., Feng, J., Xie, J., Tian, X., Li, M., Liu, P., . . . Yan, X. (2020). Co-exposure to Arsenic-Fluoride Results in Endoplasmic Reticulum Stress-Induced Apoptosis Through the PERK Signaling Pathway in the Liver of Offspring Rats. *Biological Trace Element Research*, 197(1), 192-201. doi:10.1007/s12011-019-01975-1
- Đukić-Ćosić, D., Baralić, K., Javorac, D., Djordjevic, A. B., & Bulat, Z. (2020). An overview of molecular mechanisms in cadmium toxicity. *Current opinion in toxicology*, 19, 56-62.

- Everson, T. M., Armstrong, D. A., Jackson, B. P., Green, B. B., Karagas, M. R., & Marsit, C. J. (2016). Maternal cadmium, placental PCDHAC1, and fetal development. *Reprod Toxicol*, *65*, 263-271. doi:10.1016/j.reprotox.2016.08.011
- Everson, T. M., Punshon, T., Jackson, B. P., Hao, K., Lambertini, L., Chen, J., . . . Marsit, C. J. (2017). Cadmium-associated differential methylation throughout the placental genome: epigenome-wide association study of two US birth cohorts. *bioRxiv*, 130286. doi:10.1101/130286
- Fang, M. Z., Mar, W., & Cho, M. H. (2002). Cadmium affects genes involved in growth regulation during two-stage transformation of Balb/3T3 cells. *Toxicology*, *177*(2-3), 253-265. doi:10.1016/s0300-483x(02)00229-9
- Fernández, A. F., Toraño, E. G., Urdinguio, R. G., Lana, A. G., Fernández, I. A., & Fraga, M. F. (2014). The epigenetic basis of adaptation and responses to environmental change: perspective on human reproduction. *Adv Exp Med Biol*, *753*, 97-117. doi:10.1007/978-1-4939-0820-2_6
- Fouad, A. A., Al-Mulhim, A. S., & Jresat, I. (2012). Telmisartan treatment attenuates arsenic-induced hepatotoxicity in mice. *Toxicology*, *300*(3), 149-157. doi:10.1016/j.tox.2012.06.015
- Furci, F., Allegra, A., Tonacci, A., Isola, S., Senna, G., Pioggia, G., & Gangemi, S. (2023). Air Pollution and microRNAs: The Role of Association in Airway Inflammation. *Life (Basel)*, *13*(6). doi:10.3390/life13061375
- Galfalvy, H., Shea, E., de Vegvar, J., Pantazatos, S., Huang, Y. Y., Burke, A. K., . . . Mann, J. J. (2023). Brain serotonin 1A receptor binding: relationship to peripheral blood DNA methylation, recent life stress and childhood adversity in unmedicated major depression. *Br J Psychiatry*, 1-7. doi:10.1192/bjpp.2023.13
- Go, S., Kurita, H., Hatano, M., Matsumoto, K., Nogawa, H., Fujimura, M., . . . Hozumi, I. (2021). DNA methyltransferase- and histone deacetylase-mediated epigenetic alterations induced by low-level methylmercury exposure disrupt neuronal development. *Archives of Toxicology*, *95*(4), 1227-1239. doi:10.1007/s00204-021-02984-7
- Goodrich, J. M., Basu, N., Franzblau, A., & Dolinoy, D. C. (2013). Mercury biomarkers and DNA methylation among Michigan dental professionals. *Environ Mol Mutagen*, *54*(3), 195-203. doi:10.1002/em.21763
- Green, B. B., Karagas, M. R., Punshon, T., Jackson, B. P., Robbins, D. J., Houseman, E. A., & Marsit, C. J. (2016). Epigenome-Wide Assessment of DNA Methylation in the Placenta and Arsenic Exposure in the New Hampshire Birth Cohort Study (USA). *Environ Health Perspect*, *124*(8), 1253-1260. doi:10.1289/ehp.1510437
- Hanna, C. W., Bloom, M. S., Robinson, W. P., Kim, D., Parsons, P. J., vom Saal, F. S., . . . Fujimoto, V. Y. (2012). DNA methylation changes in whole blood is associated with

exposure to the environmental contaminants, mercury, lead, cadmium and bisphenol A, in women undergoing ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod*, 27(5), 1401-1410. doi:10.1093/humrep/des038

- Hasanein, P., Ghafari-Vahed, M., & Khodadadi, I. (2017). Effects of isoquinoline alkaloid berberine on lipid peroxidation, antioxidant defense system, and liver damage induced by lead acetate in rats. *Redox Report*, 22(1), 42-50. doi:10.1080/13510002.2016.1140406
- Hegazy, A. M., & Fouad, U. A. (2014). Evaluation of lead hepatotoxicity; histological, histochemical and ultrastructural study. *Forensic Medicine and Anatomy Research*, 2(03), 70.
- Hong, Y. S., Kim, Y. M., & Lee, K. E. (2012). Methylmercury exposure and health effects. *J Prev Med Public Health*, 45(6), 353-363. doi:10.3961/jpmph.2012.45.6.353
- Hosseini, M.-J., Shaki, F., Ghazi-Khansari, M., & Pourahmad, J. (2013). Toxicity of arsenic (III) on isolated liver mitochondria: a new mechanistic approach. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 12(Suppl), 121.
- Hou, L., Zhang, X., Zheng, Y., Wang, S., Dou, C., Guo, L., . . . Baccarelli, A. A. (2014). Altered methylation in tandem repeat element and elemental component levels in inhalable air particles. *Environ Mol Mutagen*, 55(3), 256-265. doi:10.1002/em.21829
- Huarte, M., Guttman, M., Feldser, D., Garber, M., Koziol, M. J., Kenzelmann-Broz, D., . . . Rinn, J. L. (2010). A large intergenic noncoding RNA induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. *Cell*, 142(3), 409-419. doi:10.1016/j.cell.2010.06.040
- Hunter, R. G., McCarthy, K. J., Milne, T. A., Pfaff, D. W., & McEwen, B. S. (2009). Regulation of hippocampal H3 histone methylation by acute and chronic stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(49), 20912-20917. doi:10.1073/pnas.0911143106
- Hussain, M., Rao, M., Humphries, A. E., Hong, J. A., Liu, F., Yang, M., . . . Schrupp, D. S. (2009). Tobacco smoke induces polycomb-mediated repression of Dickkopf-1 in lung cancer cells. *Cancer Res*, 69(8), 3570-3578. doi:10.1158/0008-5472.Can-08-2807
- Ichihashi, M., Ueda, M., Budiyo, A., Bito, T., Oka, M., Fukunaga, M., . . . Horikawa, T. (2003). UV-induced skin damage. *Toxicology*, 189(1-2), 21-39. doi:10.1016/s0300-483x(03)00150-1
- Jardim, M. J., Fry, R. C., Jaspers, I., Dailey, L., & Diaz-Sanchez, D. (2009). Disruption of microRNA expression in human airway cells by diesel exhaust particles is linked to tumorigenesis-associated pathways. *Environ Health Perspect*, 117(11), 1745-1751. doi:10.1289/ehp.0900756

- Jarrar, B. M., & Taib, N. T. (2012). Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *19*(2), 203-210. doi:10.1016/j.sjbs.2011.12.005
- Järup, L., & Akesson, A. (2009). Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharmacol*, *238*(3), 201-208. doi:10.1016/j.taap.2009.04.020
- Jiang, G., Xu, L., Song, S., Zhu, C., Wu, Q., Zhang, L., & Wu, L. (2008). Effects of long-term low-dose cadmium exposure on genomic DNA methylation in human embryo lung fibroblast cells. *Toxicology*, *244*(1), 49-55. doi:10.1016/j.tox.2007.10.028
- Jiang, S., Postovit, L., Cattaneo, A., Binder, E. B., & Aitchison, K. J. (2019). Epigenetic Modifications in Stress Response Genes Associated With Childhood Trauma. *Frontiers in Psychiatry*, *10*. doi:10.3389/fpsy.2019.00808
- Jiang, Y., Xia, W., Yang, J., Zhu, Y., Chang, H., Liu, J., . . . Xu, S. (2015). BPA-induced DNA hypermethylation of the master mitochondrial gene PGC-1 α contributes to cardiomyopathy in male rats. *Toxicology*, *329*, 21-31. doi:10.1016/j.tox.2015.01.001
- Joubert, B. R., Håberg, S. E., Nilsen, R. M., Wang, X., Vollset, S. E., Murphy, S. K., . . . London, S. J. (2012). 450K epigenome-wide scan identifies differential DNA methylation in newborns related to maternal smoking during pregnancy. *Environ Health Perspect*, *120*(10), 1425-1431. doi:10.1289/ehp.1205412
- Karagas, M. R., Choi, A. L., Oken, E., Horvat, M., Schoeny, R., Kamai, E., . . . Korrick, S. (2012). Evidence on the human health effects of low-level methylmercury exposure. *Environ Health Perspect*, *120*(6), 799-806. doi:10.1289/ehp.1104494
- Katiyar, S. K. (2007). UV-induced immune suppression and photocarcinogenesis: chemoprevention by dietary botanical agents. *Cancer Lett*, *255*(1), 1-11. doi:10.1016/j.canlet.2007.02.010
- Katiyar, S. K., Singh, T., Prasad, R., Sun, Q., & Vaid, M. (2012). Epigenetic alterations in ultraviolet radiation-induced skin carcinogenesis: interaction of bioactive dietary components on epigenetic targets. *Photochem Photobiol*, *88*(5), 1066-1074. doi:10.1111/j.1751-1097.2011.01020.x
- Kaushal, A., Zhang, H., Karmaus, W. J. J., Everson, T. M., Marsit, C. J., Karagas, M. R., . . . Wang, S. L. (2017). Genome-wide DNA methylation at birth in relation to in utero arsenic exposure and the associated health in later life. *Environ Health*, *16*(1), 50. doi:10.1186/s12940-017-0262-0
- Kennedy, E., Everson, T. M., Punshon, T., Jackson, B. P., Hao, K., Lambertini, L., . . . Marsit, C. J. (2020). Copper associates with differential methylation in placentae from two US birth cohorts. *Epigenetics*, *15*(3), 215-230. doi:10.1080/15592294.2019.1661211
- Kile, M. L., Baccarelli, A., Hoffman, E., Tarantini, L., Quamruzzaman, Q., Rahman, M., . . . Christiani, D. C. (2012). Prenatal arsenic exposure and DNA methylation in

maternal and umbilical cord blood leukocytes. *Environ Health Perspect*, 120(7), 1061-1066. doi:10.1289/ehp.1104173

- Kile, M. L., Houseman, E. A., Baccarelli, A. A., Quamruzzaman, Q., Rahman, M., Mostofa, G., . . . Christiani, D. C. (2014). Effect of prenatal arsenic exposure on DNA methylation and leukocyte subpopulations in cord blood. *Epigenetics*, 9(5), 774-782. doi:10.4161/epi.28153
- Kippler, M., Engström, K., Mlakar, S. J., Bottai, M., Ahmed, S., Hossain, M. B., . . . Broberg, K. (2013). Sex-specific effects of early life cadmium exposure on DNA methylation and implications for birth weight. *Epigenetics*, 8(5), 494-503. doi:10.4161/epi.24401
- Kippler, M., Tofail, F., Gardner, R., Rahman, A., Hamadani, J. D., Bottai, M., & Vahter, M. (2012). Maternal cadmium exposure during pregnancy and size at birth: a prospective cohort study. *Environ Health Perspect*, 120(2), 284-289. doi:10.1289/ehp.1103711
- Koestler, D. C., Avissar-Whiting, M., Houseman, E. A., Karagas, M. R., & Marsit, C. J. (2013). Differential DNA methylation in umbilical cord blood of infants exposed to low levels of arsenic in utero. *Environ Health Perspect*, 121(8), 971-977. doi:10.1289/ehp.1205925
- Kotsanis, N., & Iliopoulou-Georgudaki, J. (1999). Arsenic induced liver hyperplasia and kidney fibrosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by microinjection technique: a sensitive animal bioassay for environmental metal-toxicity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62, 169-178.
- Koyu, A., Gokcimen, A., Ozguner, F., Bayram, D. S., & Kocak, A. (2006). Evaluation of the effects of cadmium on rat liver. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 284(1-2), 81-85. doi:10.1007/s11010-005-9017-2
- Lepeule, J., Bind, M. A., Baccarelli, A. A., Koutrakis, P., Tarantini, L., Litonjua, A., . . . Schwartz, J. D. (2014). Epigenetic influences on associations between air pollutants and lung function in elderly men: the normative aging study. *Environ Health Perspect*, 122(6), 566-572. doi:10.1289/ehp.1206458
- Levin, R., Brown, M. J., Kashtock, M. E., Jacobs, D. E., Whelan, E. A., Rodman, J., . . . Sinks, T. (2008). Lead exposures in U.S. Children, 2008: implications for prevention. *Environ Health Perspect*, 116(10), 1285-1293. doi:10.1289/ehp.11241
- Li, C., Li, P., Tan, Y. M., Lam, S. H., Chan, E. C., & Gong, Z. (2016). Metabolomic characterizations of liver injury caused by acute arsenic toxicity in zebrafish. *PLoS One*, 11(3), e0151225.
- Li, C., Yang, X., Xu, M., Zhang, J., & Sun, N. (2013). Epigenetic marker (LINE-1 promoter) methylation level was associated with occupational lead exposure. *Clin Toxicol (Phila)*, 51(4), 225-229. doi:10.3109/15563650.2013.782410

- Ligorio, M., Izzotti, A., Pulliero, A., & Arrigo, P. (2011). Mutagens interfere with microRNA maturation by inhibiting DICER. An in silico biology analysis. *Mutat Res*, *717*(1-2), 116-128. doi:10.1016/j.mrfmmm.2011.07.020
- Lin, C. C., Chen, Y. C., Su, F. C., Lin, C. M., Liao, H. F., Hwang, Y. H., . . . Chen, P. C. (2013). In utero exposure to environmental lead and manganese and neurodevelopment at 2 years of age. *Environ Res*, *123*, 52-57. doi:10.1016/j.envres.2013.03.003
- Liu, C. M., Ma, J. Q., & Sun, Y. Z. (2011). Protective role of puerarin on lead-induced alterations of the hepatic glutathione antioxidant system and hyperlipidemia in rats. *Food and Chemical Toxicology*, *49*(12), 3119-3127. doi:10.1016/j.fct.2011.09.007
- Liu, C. M., Ma, J. Q., & Sun, Y. Z. (2012). Puerarin protects the rat liver against oxidative stress-mediated DNA damage and apoptosis induced by lead. *Experimental and Toxicologic Pathology*, *64*(6), 575-582. doi:10.1016/j.etp.2010.11.016
- Liu, C. M., Zheng, G. H., Ming, Q. L., Sun, J. M., & Cheng, C. (2013). Protective effect of quercetin on lead-induced oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in rat liver via the IRE1/JNK and PI3K/Akt pathway. *Free Radical Research*, *47*(3), 192-201. doi:10.3109/10715762.2012.760198
- Liu, D., Duan, X., Dong, D., Bai, C., Li, X., Sun, G., & Li, B. (2013). Activation of the Nrf2 pathway by inorganic arsenic in human hepatocytes and the role of transcriptional repressor Bach1. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2013*.
- Lu, G., Xu, H., Chang, D., Wu, Z., Yao, X., Zhang, S., . . . Zhang, W. (2014). Arsenic exposure is associated with DNA hypermethylation of the tumor suppressor gene p16. *J Occup Med Toxicol*, *9*(1), 42. doi:10.1186/s12995-014-0042-5
- Luevano, J., & Damodaran, C. (2014). A review of molecular events of cadmium-induced carcinogenesis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, *33*(3), 183-194. doi:10.1615/jenvironpatholtoxiconcol.2014011075
- Ma, L., Liu, J. Y., Dong, J. X., Xiao, Q., Zhao, J., & Jiang, F. L. (2017). Toxicity of Pb²⁺ on rat liver mitochondria induced by oxidative stress and mitochondrial permeability transition. *Toxicology Research*, *6*(6), 822-830. doi:10.1039/c7tx00204a
- Maccani, J. Z., Koestler, D. C., Houseman, E. A., Armstrong, D. A., Marsit, C. J., & Kelsey, K. T. (2015). DNA methylation changes in the placenta are associated with fetal manganese exposure. *Reprod Toxicol*, *57*, 43-49. doi:10.1016/j.reprotox.2015.05.002
- Maccani, J. Z., Koestler, D. C., Lester, B., Houseman, E. A., Armstrong, D. A., Kelsey, K. T., & Marsit, C. J. (2015). Placental DNA Methylation Related to Both Infant Toenail Mercury and Adverse Neurobehavioral Outcomes. *Environ Health Perspect*, *123*(7), 723-729. doi:10.1289/ehp.1408561
- Maccani, M. A., Avissar-Whiting, M., Banister, C. E., McGonnigal, B., Padbury, J. F., & Marsit, C. J. (2010). Maternal cigarette smoking during pregnancy is associated

with downregulation of miR-16, miR-21, and miR-146a in the placenta. *Epigenetics*, *5*(7), 583-589. doi:10.4161/epi.5.7.12762

- Mantur, V. S., Somannavarib, M. S., Yendigeri, S., Das, K. K., & Goudar, S. S. (2014). Ameliorating effect of black tea extract on cadmium chloride-induced alteration of serum lipid profile and liver histopathology in rats. *Indian J Physiol Pharmacol*, *58*(2), 2.
- Mao, Z., Xia, W., Chang, H., Huo, W., Li, Y., & Xu, S. (2015). Paternal BPA exposure in early life alters Igf2 epigenetic status in sperm and induces pancreatic impairment in rat offspring. *Toxicol Lett*, *238*(3), 30-38. doi:10.1016/j.toxlet.2015.08.009
- Marsit, C. J., Karagas, M. R., Schned, A., & Kelsey, K. T. (2006). Carcinogen exposure and epigenetic silencing in bladder cancer. *Ann N Y Acad Sci*, *1076*, 810-821. doi:10.1196/annals.1371.031
- Martinez-Zamudio, R., & Ha, H. C. (2011). Environmental epigenetics in metal exposure. *Epigenetics*, *6*(7), 820-827. doi:10.4161/epi.6.7.16250
- Matović, V., Buha, A., Đukić-Ćosić, D., & Bulat, Z. (2015). Insight into the oxidative stress induced by lead and/or cadmium in blood, liver and kidneys. *Food Chem Toxicol*, *78*, 130-140. doi:10.1016/j.fct.2015.02.011
- Messingschlager, M., Bartel-Steinbach, M., Mackowiak, S. D., Denkena, J., Bieg, M., Klös, M., . . . Trump, S. (2023). Genome-wide DNA methylation sequencing identifies epigenetic perturbations in the upper airways under long-term exposure to moderate levels of ambient air pollution. *Environ Res*, *233*, 116413. doi:10.1016/j.envres.2023.116413
- Minervini, G., Meto, A., Fiorillo, L., Franco, R., di Francesco, F., Cicciù, M., & Cervino, G. (2023). Salivary microRNAs as innovative biomarkers for early diagnosis of oral diseases: a comparison of conventional cigarette smokers and tobacco heating system 2.2 users. *Minerva Dent Oral Sci*. doi:10.23736/s2724-6329.23.04790-3
- Mohammadi, M., Ghaznavi, R., Keyhanmanesh, R., Sadeghipour, H. R., Naderi, R., & Mohammadi, H. (2013). Voluntary exercise prevents lead-induced elevation of oxidative stress and inflammation markers in male rat blood. *The Scientific World Journal*, *2013*.
- Mohanty, A. F., Farin, F. M., Bammler, T. K., MacDonald, J. W., Afsharinejad, Z., Burbacher, T. M., . . . Enquobahrie, D. A. (2015). Infant sex-specific placental cadmium and DNA methylation associations. *Environ Res*, *138*, 74-81. doi:10.1016/j.envres.2015.02.004
- Monick, M. M., Beach, S. R., Plume, J., Sears, R., Gerrard, M., Brody, G. H., & Philibert, R. A. (2012). Coordinated changes in AHRR methylation in lymphoblasts and pulmonary macrophages from smokers. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, *159b*(2), 141-151. doi:10.1002/ajmg.b.32021

- Monteiro, D. A., Rantin, F. T., & Kalinin, A. L. (2010). Inorganic mercury exposure: Toxicological effects, oxidative stress biomarkers and bioaccumulation in the tropical freshwater fish matrinxã, *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829). *Ecotoxicology*, *19*(1), 105-123. doi:10.1007/s10646-009-0395-1
- Montes-Castro, N., Alvarado-Cruz, I., Torres-Sánchez, L., García-Aguilar, I., Barrera-Hernández, A., Escamilla-Núñez, C., . . . Quintanilla-Vega, B. (2019). Prenatal exposure to metals modified DNA methylation and the expression of antioxidant- and DNA defense-related genes in newborns in an urban area. *J Trace Elem Med Biol*, *55*, 110-120. doi:10.1016/j.jtemb.2019.06.014
- Montrose, L., Goodrich, J. M., Morishita, M., Kochmanski, J., Klaver, Z., Cavalcante, R., . . . Dolinoy, D. C. (2020). Neonatal Lead (Pb) Exposure and DNA Methylation Profiles in Dried Bloodspots. *Int J Environ Res Public Health*, *17*(18). doi:10.3390/ijerph17186775
- Mortoglou, M., Wallace, D., Buha Djordjevic, A., Djordjevic, V., Arisan, E. D., & Uysal-Onganer, P. (2021). MicroRNA-regulated signaling pathways: potential biomarkers for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Stresses*, *1*(1), 30-47.
- Mudipalli, A. (2007). Lead hepatotoxicity & potential health effects. *Indian Journal of Medical Research*, *126*(6), 518-527. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-42949089904&partnerID=40&md5=5259642d3d3319a2674bc0ca6c075192>
- Murao, K., Kubo, Y., Ohtani, N., Hara, E., & Arase, S. (2006). Epigenetic abnormalities in cutaneous squamous cell carcinomas: frequent inactivation of the RB1/p16 and p53 pathways. *Br J Dermatol*, *155*(5), 999-1005. doi:10.1111/j.1365-2133.2006.07487.x
- Nagy, C., & Turecki, G. (2015). Transgenerational epigenetic inheritance: an open discussion. *Epigenomics*, *7*(5), 781-790. doi:10.2217/epi.15.46
- Narayanan, D. L., Saladi, R. N., & Fox, J. L. (2010). Ultraviolet radiation and skin cancer. *Int J Dermatol*, *49*(9), 978-986. doi:10.1111/j.1365-4632.2010.04474.x
- Newbold, R. R., Jefferson, W. N., & Padilla-Banks, E. (2009). Prenatal exposure to bisphenol a at environmentally relevant doses adversely affects the murine female reproductive tract later in life. *Environ Health Perspect*, *117*(6), 879-885. doi:10.1289/ehp.0800045
- Ngala, R. A., Awe, M. A., & Nsiah, P. (2018). The effects of plasma chromium on lipid profile, glucose metabolism and cardiovascular risk in type 2 diabetes mellitus. A case - control study. *PLoS One*, *13*(7). doi:10.1371/journal.pone.0197977
- Ottini, L., Rizzolo, P., Siniscalchi, E., Zijno, A., Silvestri, V., Crebelli, R., & Marcon, F. (2015). Gene promoter methylation and DNA repair capacity in monozygotic twins with

- discordant smoking habits. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 779, 57-64. doi:10.1016/j.mrgentox.2015.01.006
- Pal, P. B., Pal, S., Das, J., & Sil, P. C. (2012). Modulation of mercury-induced mitochondria-dependent apoptosis by glycine in hepatocytes. *Amino Acids*, 42(5), 1669-1683. doi:10.1007/s00726-011-0869-3
- Pang, S., & Curran, S. P. (2012). Longevity and the long arm of epigenetics: acquired parental marks influence lifespan across several generations. *Bioessays*, 34(8), 652-654. doi:10.1002/bies.201200046
- Park, J., Kim, J., Kim, E., Kim, W. J., & Won, S. (2021). Prenatal lead exposure and cord blood DNA methylation in the Korean Exposome Study. *Environ Res*, 195, 110767. doi:10.1016/j.envres.2021.110767
- Park, J. D., & Zheng, W. (2012). Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *J Prev Med Public Health*, 45(6), 344-352. doi:10.3961/jpmph.2012.45.6.344
- Patlolla, A. K., Barnes, C., Yedjou, C., Velma, V. R., & Tchounwou, P. B. (2009). Oxidative stress, DNA damage, and antioxidant enzyme activity induced by hexavalent chromium in sprague-dawley rats. *Environmental Toxicology*, 24(1), 66-73. doi:10.1002/tox.20395
- Patnaik, B. B., Roy, A., Agarwal, S., & Bhattacharya, S. (2010). Induction of oxidative stress by non-lethal dose of mercury in rat liver: Possible relationships between apoptosis and necrosis. *Journal of Environmental Biology*, 31(4), 413-416. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-77954619183&partnerID=40&md5=4b364490901be282fe1a795ab8063138>
- Phookphan, P., Navasumrit, P., Waraprasit, S., Promvijit, J., Chaisatra, K., Ngaotepprutaram, T., & Ruchirawat, M. (2017). Hypomethylation of inflammatory genes (COX2, EGR1, and SOCS3) and increased urinary 8-nitroguanine in arsenic-exposed newborns and children. *Toxicol Appl Pharmacol*, 316, 36-47. doi:10.1016/j.taap.2016.12.015
- Pilsner, J. R., Hall, M. N., Liu, X., Ilievski, V., Slavkovich, V., Levy, D., . . . Gamble, M. V. (2012). Influence of prenatal arsenic exposure and newborn sex on global methylation of cord blood DNA. *PLoS One*, 7(5), e37147. doi:10.1371/journal.pone.0037147
- Rager, J. E., Bailey, K. A., Smeester, L., Miller, S. K., Parker, J. S., Laine, J. E., . . . Fry, R. C. (2014). Prenatal arsenic exposure and the epigenome: altered microRNAs associated with innate and adaptive immune signaling in newborn cord blood. *Environ Mol Mutagen*, 55(3), 196-208. doi:10.1002/em.21842
- Rana, S. V. S. (2008). Metals and apoptosis: Recent developments. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 22(4), 262-284. doi:10.1016/j.jtemb.2008.08.002

- Rani, A., Kumar, A., Lal, A., & Pant, M. (2014). Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: A review. *International Journal of Environmental Health Research*, 24(4), 378-399. doi:10.1080/09603123.2013.835032
- Reichard, J. F., Schnekenburger, M., & Puga, A. (2007). Long term low-dose arsenic exposure induces loss of DNA methylation. *Biochem Biophys Res Commun*, 352(1), 188-192. doi:10.1016/j.bbrc.2006.11.001
- Renugadevi, J., & Prabu, S. M. (2010). Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(2), 171-181. doi:10.1016/j.etp.2009.03.010
- Rikans, L. E., & Yamano, T. (2000). Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 14(2), 110-117. doi:10.1002/(SICI)1099-0461(2000)14:2<110::AID-JBT7>3.0.CO;2-J
- Rojas, D., Rager, J. E., Smeester, L., Bailey, K. A., Drobná, Z., Rubio-Andrade, M., . . . Fry, R. C. (2015). Prenatal arsenic exposure and the epigenome: identifying sites of 5-methylcytosine alterations that predict functional changes in gene expression in newborn cord blood and subsequent birth outcomes. *Toxicol Sci*, 143(1), 97-106. doi:10.1093/toxsci/kfu210
- Ryu, H. W., Lee, D. H., Won, H. R., Kim, K. H., Seong, Y. J., & Kwon, S. H. (2015). Influence of toxicologically relevant metals on human epigenetic regulation. *Toxicol Res*, 31(1), 1-9. doi:10.5487/tr.2015.31.1.001
- Samarghandian, S., Azimi-Nezhad, M., Shabestari, M. M., Azad, F. J., Farkhondeh, T., & Bafandeh, F. (2015). Effect of chronic exposure to cadmium on serum lipid, lipoprotein and oxidative stress indices in male rats. *Interdisciplinary Toxicology*, 8(3), 151-154. doi:10.1515/intox-2015-0023
- Sanders, A. P., Burriss, H. H., Just, A. C., Motta, V., Amarasiriwardena, C., Svensson, K., . . . Wright, R. O. (2015). Altered miRNA expression in the cervix during pregnancy associated with lead and mercury exposure. *Epigenomics*, 7(6), 885-896. doi:10.2217/epi.15.54
- Sanders, A. P., Smeester, L., Rojas, D., DeBussycher, T., Wu, M. C., Wright, F. A., . . . Fry, R. C. (2014). Cadmium exposure and the epigenome: Exposure-associated patterns of DNA methylation in leukocytes from mother-baby pairs. *Epigenetics*, 9(2), 212-221. doi:10.4161/epi.26798
- Saxena, A., & Carninci, P. (2011). Long non-coding RNA modifies chromatin: epigenetic silencing by long non-coding RNAs. *Bioessays*, 33(11), 830-839. doi:10.1002/bies.201100084
- Schembri, F., Sridhar, S., Perdomo, C., Gustafson, A. M., Zhang, X., Ergun, A., . . . Spira, A. (2009). MicroRNAs as modulators of smoking-induced gene expression changes

- in human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *106*(7), 2319-2324. doi:10.1073/pnas.0806383106
- Schernhammer, E. S., Giovannucci, E., Kawasaki, T., Rosner, B., Fuchs, C. S., & Ogino, S. (2010). Dietary folate, alcohol and B vitamins in relation to LINE-1 hypomethylation in colon cancer. *Gut*, *59*(6), 794-799. doi:10.1136/gut.2009.183707
- Sen, A., Heredia, N., Senut, M. C., Hess, M., Land, S., Qu, W., . . . Ruden, D. M. (2015). Early life lead exposure causes gender-specific changes in the DNA methylation profile of DNA extracted from dried blood spots. *Epigenomics*, *7*(3), 379-393. doi:10.2217/epi.15.2
- Sen, A., Heredia, N., Senut, M. C., Land, S., Hollocher, K., Lu, X., . . . Ruden, D. M. (2015). Multigenerational epigenetic inheritance in humans: DNA methylation changes associated with maternal exposure to lead can be transmitted to the grandchildren. *Sci Rep*, *5*, 14466. doi:10.1038/srep14466
- Singh, A. P., Goel, R. K., & Kaur, T. (2011). Mechanisms pertaining to arsenic toxicity. *Toxicology International*, *18*(2), 87-93. doi:10.4103/0971-6580.84258
- Singh, N., Kumar, A., Gupta, V. K., & Sharma, B. (2018). Biochemical and Molecular Bases of Lead-Induced Toxicity in Mammalian Systems and Possible Mitigations. *Chemical Research in Toxicology*, *31*(10), 1009-1021. doi:10.1021/acs.chemrestox.8b00193
- Smith, I. M., Mydlarz, W. K., Mithani, S. K., & Califano, J. A. (2007). DNA global hypomethylation in squamous cell head and neck cancer associated with smoking, alcohol consumption and stage. *Int J Cancer*, *121*(8), 1724-1728. doi:10.1002/ijc.22889
- Spruill, M. D., Song, B., Whong, W. Z., & Ong, T. (2002). Proto-oncogene amplification and overexpression in cadmium-induced cell transformation. *J Toxicol Environ Health A*, *65*(24), 2131-2144. doi:10.1080/00984100290071379
- Suter, M. A., Anders, A. M., & Aagaard, K. M. (2013). Maternal smoking as a model for environmental epigenetic changes affecting birthweight and fetal programming. *Mol Hum Reprod*, *19*(1), 1-6. doi:10.1093/molehr/gas050
- Suzuki, M., Takeda, S., Teraoka-Nishitani, N., Yamagata, A., Tanaka, T., Sasaki, M., . . . Takiguchi, M. (2017). Cadmium-induced malignant transformation of rat liver cells: Potential key role and regulatory mechanism of altered apolipoprotein E expression in enhanced invasiveness. *Toxicology*, *382*, 16-23. doi:10.1016/j.tox.2017.03.014
- Svoboda, L. K., Wang, K., Goodrich, J. M., Jones, T. R., Colacino, J. A., Peterson, K. E., . . . Dolinoy, D. C. (2023). Perinatal Lead Exposure Promotes Sex-Specific Epigenetic Programming of Disease-Relevant Pathways in Mouse Heart. *Toxics*, *11*(1). doi:10.3390/toxics11010085

- Tajuddin, S. M., Amaral, A. F., Fernández, A. F., Rodríguez-Rodero, S., Rodríguez, R. M., Moore, L. E., . . . Malats, N. (2013). Genetic and non-genetic predictors of LINE-1 methylation in leukocyte DNA. *Environ Health Perspect*, *121*(6), 650-656. doi:10.1289/ehp.1206068
- Tang, W. Y., Morey, L. M., Cheung, Y. Y., Birch, L., Prins, G. S., & Ho, S. M. (2012). Neonatal exposure to estradiol/bisphenol A alters promoter methylation and expression of Nsbp1 and Hpcal1 genes and transcriptional programs of Dnmt3a/b and Mbd2/4 in the rat prostate gland throughout life. *Endocrinology*, *153*(1), 42-55. doi:10.1210/en.2011-1308
- Tani, H., Onuma, Y., Ito, Y., & Torimura, M. (2014). Long non-coding RNAs as surrogate indicators for chemical stress responses in human-induced pluripotent stem cells. *PLoS One*, *9*(8), e106282. doi:10.1371/journal.pone.0106282
- Tani, H., & Torimura, M. (2015). Development of cytotoxicity-sensitive human cells using overexpression of long non-coding RNAs. *J Biosci Bioeng*, *119*(5), 604-608. doi:10.1016/j.jbiosc.2014.10.012
- Tarantini, L., Bonzini, M., Apostoli, P., Pegoraro, V., Bollati, V., Marinelli, B., . . . Baccarelli, A. (2009). Effects of particulate matter on genomic DNA methylation content and iNOS promoter methylation. *Environ Health Perspect*, *117*(2), 217-222. doi:10.1289/ehp.11898
- Tsou, J. A., Shen, L. Y., Siegmund, K. D., Long, T. I., Laird, P. W., Seneviratne, C. K., . . . Laird-Offringa, I. A. (2005). Distinct DNA methylation profiles in malignant mesothelioma, lung adenocarcinoma, and non-tumor lung. *Lung Cancer*, *47*(2), 193-204. doi:10.1016/j.lungcan.2004.08.003
- Tyler, C. R., Hafez, A. K., Solomon, E. R., & Allan, A. M. (2015). Developmental exposure to 50 parts-per-billion arsenic influences histone modifications and associated epigenetic machinery in a region- and sex-specific manner in the adult mouse brain. *Toxicol Appl Pharmacol*, *288*(1), 40-51. doi:10.1016/j.taap.2015.07.013
- Tyler, C. R., Weber, J. A., Labrecque, M., Hessinger, J. M., Edwards, J. S., & Allan, A. M. (2015). ChIP-Seq analysis of the adult male mouse brain after developmental exposure to arsenic. *Data Brief*, *5*, 248-254. doi:10.1016/j.dib.2015.08.037
- van der Knaap, L. J., Riese, H., Hudziak, J. J., Verbiest, M. M., Verhulst, F. C., Oldehinkel, A. J., & van Oort, F. V. (2014). Glucocorticoid receptor gene (NR3C1) methylation following stressful events between birth and adolescence. The TRAILS study. *Transl Psychiatry*, *4*(4), e381. doi:10.1038/tp.2014.22
- Vaziri, N. D., & Khan, M. (2007). Interplay of reactive oxygen species and nitric oxide in the pathogenesis of experimental lead-induced hypertension. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *34*(9), 920-925. doi:10.1111/j.1440-1681.2007.04644.x

- Venter, C., Oberholzer, H. M., Taute, H., Cummings, F. R., & Bester, M. J. (2015). An in ovo investigation into the hepatotoxicity of cadmium and chromium evaluated with light-and transmission electron microscopy and electron energy-loss spectroscopy. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, *50*(8), 830-838. doi:10.1080/10934529.2015.1019804
- Vidal, A. C., Semenova, V., Darrah, T., Vengosh, A., Huang, Z., King, K., . . . Hoyo, C. (2015). Maternal cadmium, iron and zinc levels, DNA methylation and birth weight. *BMC Pharmacol Toxicol*, *16*, 20. doi:10.1186/s40360-015-0020-2
- Vrijens, K., Bollati, V., & Nawrot, T. S. (2015). MicroRNAs as potential signatures of environmental exposure or effect: a systematic review. *Environ Health Perspect*, *123*(5), 399-411. doi:10.1289/ehp.1408459
- Waalkes, M. P., Keefer, L. K., & Diwan, B. A. (2000). Induction of proliferative lesions of the uterus, testes, and liver in Swiss mice given repeated injections of sodium arsenate: Possible estrogenic mode of action. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *166*(1), 24-35. doi:10.1006/taap.2000.8963
- Wadaan, M. A. M. (2009). Effects of mercury exposure on blood chemistry and liver histopathology of male rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, *4*(3), 126-131. doi:10.3923/jpt.2009.126.131
- Wang, H., Liu, B., Chen, H., Xu, P., Xue, H., & Yuan, J. (2023). Dynamic changes of DNA methylation induced by benzo(a)pyrene in cancer. *Genes Environ*, *45*(1), 21. doi:10.1186/s41021-023-00278-1
- Wang, T., Meng, Y., Tu, Y., Zhang, G., Wang, K., Gong, S., . . . Xia, Z. L. (2023). Associations between DNA methylation and genotoxicity among lead-exposed workers in China. *Environ Pollut*, *316*(Pt 1), 120528. doi:10.1016/j.envpol.2022.120528
- Weng, Y. I., Hsu, P. Y., Liyanarachchi, S., Liu, J., Deatherage, D. E., Huang, Y. W., . . . Huang, T. H. (2010). Epigenetic influences of low-dose bisphenol A in primary human breast epithelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, *248*(2), 111-121. doi:10.1016/j.taap.2010.07.014
- Weyde, K. V. F., Olsen, A. K., Duale, N., Kamstra, J. H., Skogheim, T. S., Caspersen, I. H., . . . Villanger, G. D. (2021). Gestational blood levels of toxic metal and essential element mixtures and associations with global DNA methylation in pregnant women and their infants. *Sci Total Environ*, *787*, 147621. doi:10.1016/j.scitotenv.2021.147621
- Whitelaw, N. C., & Whitelaw, E. (2008). Transgenerational epigenetic inheritance in health and disease. *Curr Opin Genet Dev*, *18*(3), 273-279. doi:10.1016/j.gde.2008.07.001

- Wilhelm, C. S., Kelsey, K. T., Butler, R., Plaza, S., Gagne, L., Zens, M. S., . . . Marsit, C. J. (2010). Implications of LINE1 methylation for bladder cancer risk in women. *Clin Cancer Res*, *16*(5), 1682-1689. doi:10.1158/1078-0432.Ccr-09-2983
- Winter, S., Simboeck, E., Fischle, W., Zupkovitz, G., Dohnal, I., Mechtler, K., . . . Seiser, C. (2008). 14-3-3 proteins recognize a histone code at histone H3 and are required for transcriptional activation. *Embo j*, *27*(1), 88-99. doi:10.1038/sj.emboj.7601954
- Wright, R. O., Schwartz, J., Wright, R. J., Bollati, V., Tarantini, L., Park, S. K., . . . Baccarelli, A. (2010). Biomarkers of lead exposure and DNA methylation within retrotransposons. *Environ Health Perspect*, *118*(6), 790-795. doi:10.1289/ehp.0901429
- Wu, S., Hivert, M. F., Cardenas, A., Zhong, J., Rifas-Shiman, S. L., Agha, G., . . . Baccarelli, A. A. (2017). Exposure to Low Levels of Lead in Utero and Umbilical Cord Blood DNA Methylation in Project Viva: An Epigenome-Wide Association Study. *Environ Health Perspect*, *125*(8), 087019. doi:10.1289/ehp1246
- Xi, S., Yang, M., Tao, Y., Xu, H., Shan, J., Inchauste, S., . . . Schrupp, D. S. (2010). Cigarette smoke induces C/EBP- β -mediated activation of miR-31 in normal human respiratory epithelia and lung cancer cells. *PLoS One*, *5*(10), e13764. doi:10.1371/journal.pone.0013764
- Xiao, F., Feng, X., Zeng, M., Guan, L., Hu, Q., & Zhong, C. (2012). Hexavalent chromium induces energy metabolism disturbance and p53-dependent cell cycle arrest via reactive oxygen species in L-02 hepatocytes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *371*(1-2), 65-76. doi:10.1007/s11010-012-1423-7
- Xie, J., & Shaikh, Z. A. (2006). Cadmium-induced apoptosis in rat kidney epithelial cells involves decrease in nuclear factor-kappa B activity. *Toxicological Sciences*, *91*(1), 299-308. doi:10.1093/toxsci/kfj131
- Xu, S. C., He, M. D., Lu, Y. H., Li, L., Zhong, M., Zhang, Y. W., . . . Zhou, Z. (2011). Nickel exposure induces oxidative damage to mitochondrial DNA in Neuro2a cells: the neuroprotective roles of melatonin. *Journal of pineal research*, *51*(4), 426-433.
- Xu, Z., Wang, Z., Li, J.-j., Chen, C., Zhang, P.-c., Dong, L., . . . Wang, Z.-l. (2013). Protective effects of selenium on oxidative damage and oxidative stress related gene expression in rat liver under chronic poisoning of arsenic. *Food and Chemical Toxicology*, *58*, 1-7.
- Yahyazedeh, A., Altunkaynak, B. Z., Akgül, N., & Akgül, H. M. (2017). A histopathological and stereological study of liver damage in female rats caused by mercury vapor. *Biotechnic and Histochemistry*, *92*(5), 338-346. doi:10.1080/10520295.2017.1312527

- Yakovlev, V., Lapato, D. M., Rana, P., Ghosh, P., Frye, R., & Roberson-Nay, R. (2023). Neuron Enriched Exosomal MicroRNA Expression Profiles as a Marker of Early Life Alcohol Consumption. *bioRxiv*. doi:10.1101/2023.06.09.544235
- Yan, J., Huang, H., Liu, Z., Shen, J., Ni, J., Han, J., . . . Jin, L. (2020). Hedgehog signaling pathway regulates hexavalent chromium-induced liver fibrosis by activation of hepatic stellate cells. *Toxicology Letters*, *320*, 1-8. doi:10.1016/j.toxlet.2019.11.017
- Yang, W., Guo, Y., Ni, W., Tian, T., Jin, L., Liu, J., . . . Wang, L. (2021). Hypermethylation of WNT3A gene and non-syndromic cleft lip and/or palate in association with in utero exposure to lead: A mediation analysis. *Ecotoxicol Environ Saf*, *208*, 111415. doi:10.1016/j.ecoenv.2020.111415
- Yao, B., Cheng, Y., Wang, Z., Li, Y., Chen, L., Huang, L., . . . Jin, P. (2017). DNA N6-methyladenine is dynamically regulated in the mouse brain following environmental stress. *Nature Communications*, *8*(1), 1122. doi:10.1038/s41467-017-01195-y
- Yohannes, Y. B., Nakayama, S. M. M., Yabe, J., Toyomaki, H., Kataba, A., Nakata, H., . . . Ishizuka, M. (2022). Methylation profiles of global LINE-1 DNA and the GSTP1 promoter region in children exposed to lead (Pb). *Epigenetics*, *17*(13), 2377-2388. doi:10.1080/15592294.2022.2123924
- Zeilinger, S., Kühnel, B., Klopp, N., Baurecht, H., Kleinschmidt, A., Gieger, C., . . . Illig, T. (2013). Tobacco smoking leads to extensive genome-wide changes in DNA methylation. *PLoS One*, *8*(5), e63812. doi:10.1371/journal.pone.0063812
- Zeng, Z., Huo, X., Zhang, Y., Hylkema, M. N., Wu, Y., & Xu, X. (2019). Differential DNA methylation in newborns with maternal exposure to heavy metals from an e-waste recycling area. *Environ Res*, *171*, 536-545. doi:10.1016/j.envres.2019.01.007
- Zhang, H., Tan, X., Yang, D., Lu, J., Liu, B., Baiyun, R., & Zhang, Z. (2017). Dietary luteolin attenuates chronic liver injury induced by mercuric chloride via the Nrf2/NF- κ B/P53 signaling pathway in rats. *Oncotarget*, *8*(25), 40982-40993. doi:10.18632/oncotarget.17334
- Zhang, S. N., Xie, W. Y., Zhai, Z. Q., Chen, C., Zhao, F. J., & Wang, P. (2023). Dietary intake of household cadmium-contaminated rice caused genome-wide DNA methylation changes on gene/hubs related to metabolic disorders and cancers. *Environ Pollut*, *327*, 121553. doi:10.1016/j.envpol.2023.121553
- Zhang, X., Rosenstein, B. S., Wang, Y., Lebwohl, M., & Wei, H. (1997). Identification of possible reactive oxygen species involved in ultraviolet radiation-induced oxidative DNA damage. *Free Radic Biol Med*, *23*(7), 980-985. doi:10.1016/s0891-5849(97)00126-3
- Zhang, Y., Ma, Y., Liang, N., Liang, Y., Lu, C., & Xiao, F. (2019). Blockage of ROS-ERK-DLP1 signaling and mitochondrial fission alleviates Cr(VI)-induced mitochondrial

dysfunction in L02 hepatocytes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 186. doi:10.1016/j.ecoenv.2019.109749

- Zhang, Y., Xiao, F., Liu, X., Liu, K., Zhou, X., & Zhong, C. (2017). Cr (VI) induces cytotoxicity *in vitro* through activation of ROS-mediated endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction via the PI3K/Akt signaling pathway. *Toxicology in vitro*, 41, 232-244.
- Zhang, Z., Gao, L., Cheng, Y., Jiang, J., Chen, Y., Jiang, H., . . . Cheng, B. (2014). Resveratrol, a natural antioxidant, has a protective effect on liver injury induced by inorganic arsenic exposure. *BioMed Research International*, 2014.
- Zhao, C. Q., Young, M. R., Diwan, B. A., Coogan, T. P., & Waalkes, M. P. (1997). Association of arsenic-induced malignant transformation with DNA hypomethylation and aberrant gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(20), 10907-10912. doi:10.1073/pnas.94.20.10907
- Zheng, G. H., Liu, C. M., Sun, J. M., Feng, Z. J., & Cheng, C. (2014). Nickel-induced oxidative stress and apoptosis in *Carassius auratus* liver by JNK pathway. *Aquatic Toxicology*, 147, 105-111. doi:10.1016/j.aquatox.2013.12.015
- Zheng, Q., Wang, H., Yan, A., Yin, F., & Qiao, X. (2023). DNA Methylation in Alcohol Use Disorder. *Int J Mol Sci*, 24(12). doi:10.3390/ijms241210130
- Zhong, X., da Silveira e Sá, R. C., & Zhong, C. (2017). Mitochondrial biogenesis in response to chromium (VI) toxicity in human liver cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(9). doi:10.3390/ijms18091877
- Zhou, X., Sun, H., Ellen, T. P., Chen, H., & Costa, M. (2008). Arsenite alters global histone H3 methylation. *Carcinogenesis*, 29(9), 1831-1836. doi:10.1093/carcin/bgn063

5. Modificări reversibile ale proteinelor, ADN-ului și ARN-ului și rolul lor în cancer

Radu Pîrlog¹

¹Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Introducere

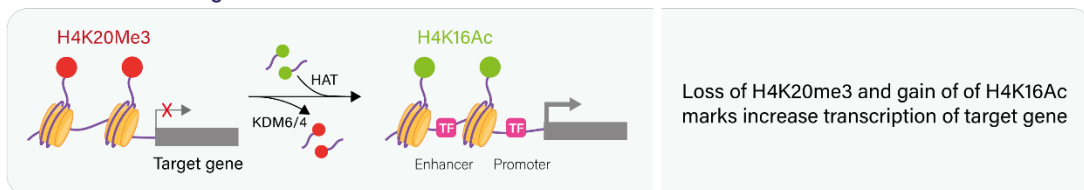
Modificările epigenetice sunt modificări care apar în activitatea genelor. Aceste modificări epigenetice sunt ereditare și transmise descendenților (Davalos & Esteller, 2022; Holliday, 1987).

Aceste modificări epigenetice reversibile reprezintă modificări dinamice care apar în ADN, ARN și proteine care pot fi acum investigate datorită progreselor tehnicilor genomice. Studiul modificărilor reversibile a apărut ca un nou domeniu de cercetare care are ca scop decodificarea factorilor care reglează aceste modificări în cancere și diferite boli. Modificările reversibile se referă la modificări care pot fi adăugate sau eliminate prin mecanisme multiple, inclusiv metilarea, acetilarea și fosforilarea, toate acestea jucând un rol esențial în reglarea funcțiilor celulare. Aceste modificări sunt esențiale pentru reglarea funcțiilor celulare, inclusiv reglarea epigenetică, funcția proteinelor și transducția semnalului genomic. Perturbările în mașinăria epigenetică complexă responsabilă de reglarea modificărilor reversibile pot duce la un comportament celular anormal, contribuind la apariția și progresia cancerului (Farooqi et al., 2022). De exemplu, metilarea ADN-ului, cel mai frecvent tip de modificare epigenetică, poate limita expresia genelor și poate influența diferențierea celulară (Hanahan, 2022).

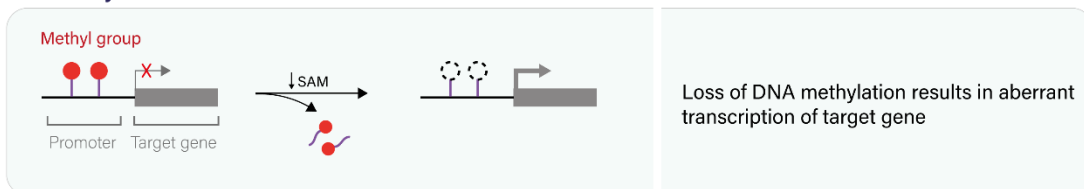
Modificările reversibile pot contribui la dezvoltarea cancerului în mai multe moduri. Primul exemplu de modificări reversibile implicate în dezvoltarea și progresia cancerului este reprezentat de metilare, care a fost descrisă pentru prima dată la om cu mai mult de 40 de ani în urmă (Berdasco & Esteller, 2019). De exemplu, hipermetilarea ADN-ului poate duce la reducerea la tăcere a genelor supresoare tumorale, promovând creșterea necontrolată a celulelor. De asemenea, modificarea proteinelor poate interfera cu funcția lor, blocând calea fiziologică de semnalizare și ducând la activarea căilor celulare anormale și la progresia ulterioară a cancerului (Figura 1). Studii recente au identificat mai multe modificări specifice ale proteinelor și ADN-ului care sunt asociate cu diverse tipuri de cancer, subliniind importanța studierii acestor mecanisme pentru a înțelege mai bine dezvoltarea și progresia cancerului.

Mechanisms of Epigenetic dysregulation in cancer

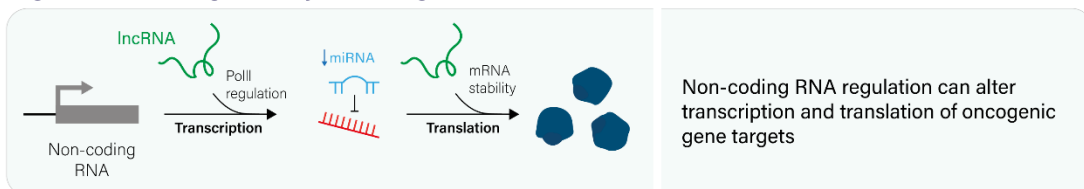
Chromatin Remodeling



DNA Methylation



Regulation of messenger RNA by non-coding RNAs



Regulation of messenger RNA by writer and eraser enzymes

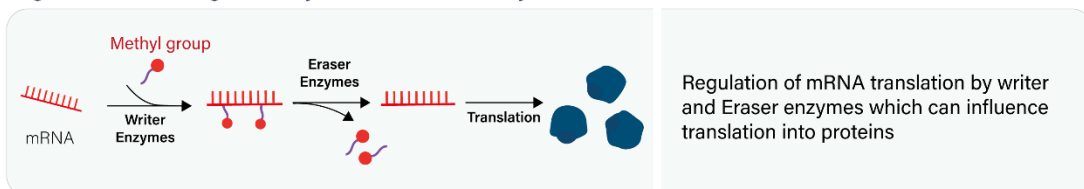


Figura 1. Principalele mecanisme de reglare epigenetică prin modificări reversibile în cancer.

În acest capitol, vom urmări să aprofundăm relația complexă dintre aceste modificări reversibile ale genomului și cancer, insistând asupra principalelor mecanisme, implicațiile lor în tumorigeneza și direcțiile viitoare de cercetare.

5.1. Semnificația modificărilor reversibile în biologia cancerului

Modificările reversibile au implicații semnificative în biologia cancerului, contribuind la inițierea, progresia și răspunsurile terapeutice ale tumorii. Iată câteva aspecte cheie:

Modificări ale proteinelor: Modificările aberante ale proteinelor pot perturba căile normale de semnalizare celulară, ducând la proliferarea, supraviețuirea și invazia necontrolată a celulelor. Exemplele includ hiperactivarea semnalizării kinazelor

datorită defecte în fosforilările și a modelelor de acetilare modificate care afectează expresia oncogenică.

Modificările reversibile joacă un rol critic în reglarea epigenetică, influențând profilurile de expresie genică în cancer. Modelele anormale de metilare a ADN-ului, modificările histonelor și accesibilitatea modificată a cromatinei contribuie la reducerea expresiei genelor a supresoarelor-tumorale sau la activarea oncogenelor.

Modificările ARN: Dereglarea modificărilor ARN, în special m6A, a fost implicată în diferite tipuri de cancer. Nivelurile de expresie influențate de modificare a m6A pot afecta stabilitatea, îmbinarea și translația ARN-ului, ducând la expresia aberantă a genelor legate de cancer.

Caracterizarea acestor modificări reversibile a condus la o mai bună înțelegere a tumorilor umane, la o mai bună clasificare și identificare a semnăturilor asociate cu răspunsul la chimioterapice și rezistența la terapie. Aceste semnături pot fi caracterizate folosind noile tehnologii disponibile cu randament ridicat care analizează materialul genomic izolat din diferite probe clinice, cum ar fi sânge, spută, urină și țesut fixat în parafină, din care putem realiza un profil epigenetic și putem căuta semnături specifice și le putem interpreta ca biomarkeri. O listă a principalelor utilizări ale acestor semnături epigenetice ca biomarkeri este prezentată în figura 2.

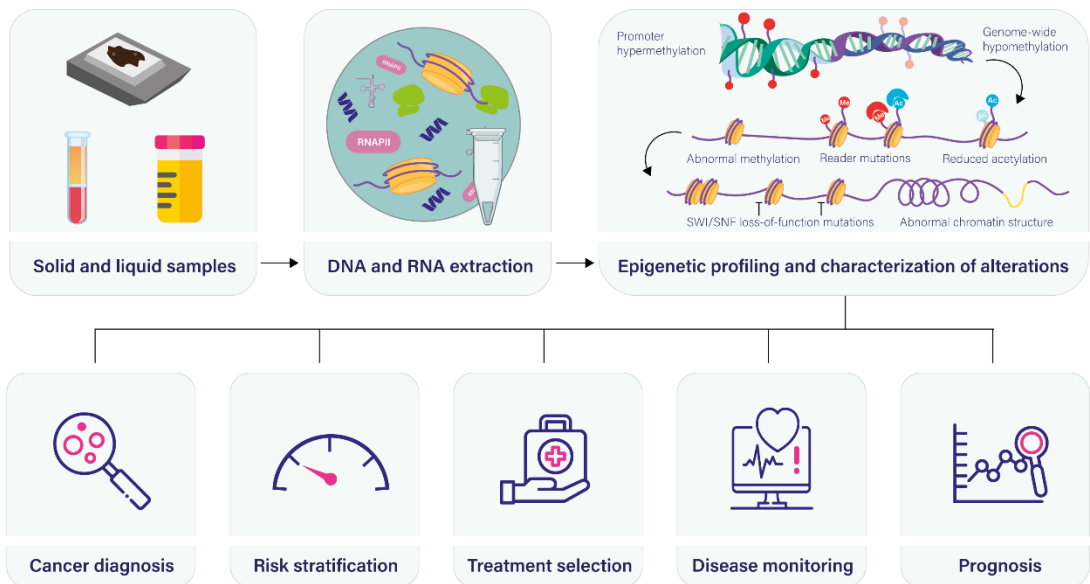


Figura 2. Rolurile analizei modificărilor epigenetice reversibile în cancer și impactul acestora asupra diagnosticului și progresiei cancerului.

5.2. Modificări reversibile ale ADN-ului și rolul lor în cancer

5.2.1. Metilarea ADN-ului și dinamica demetilării în reglarea genelor canceroase

Modificările ADN-ului includ diverse procese care modifică atât structura, cât și funcția ADN-ului, inclusiv metilarea ADN-ului, modificările histonelor și procesele ADN care implică deteriorarea / repararea. Cea mai studiată modificare este reprezentată de metilarea ADN-ului, în special la dinucleotidele CpG, care este crucială atât pentru reglarea genelor, cât și pentru stabilitatea genomică. Modificări histonice, cum ar fi acetilarea, metilarea și fosforilarea, controlează structura cromatinei, afectând modelele de expresie genică. Procesele de deteriorare și reparare a ADN-ului, inclusiv formarea și repararea ADN-ului, mențin integritatea genomică.

Metilarea ADN-ului este procesul care implică o modificare covalentă reversibilă a ADN-ului care implică adăugarea unui radical metil la nucleotidele citozinei. Această modificare apare mai frecvent în situsurile CpG, unde o citozină este urmată de o guanină. Această modificare este strict reglată de un set de enzime care supraveghează procesul, numite ADN metiltransferaze (DNMT), care adaugă și elimină radicalul metil (Holliday, 1987; Mattei et al., 2022). Metilarea citozinei poate fi, de asemenea, pierdută într-un mecanism independent de DNMT în timpul diviziunii celulare. Aceste site-uri CpG sunt situate în locuri precise din genomul uman, fiind prezente în regiunile de reglare a mai mult de 50% din genele umane active (Antequera și pasărea, 2018) (Figura 1).

Efectul metilării este reducerea transcripției genelor, fiind un comutator off. În fiziologia normală, apare în timpul reducerii expresiei cromozomilor X a genelor specifice și în timpul dezvoltării embrionare, când diferite gene sunt activate și inactivate ca urmare a dezvoltării fătului.

În cancer, avem efectul opus metilării, demetilarea ADN-ului care duce la activarea dezordonată a transcripției genelor care duce la instabilitate cromozomială și erori în transcripție și translație care pot activa oncogenele și fenotipului malign.

5.2.2. Modificări histonice și impactul acestora asupra structurii cromatinei și expresiei genice

Un alt mecanism de modificare reversibilă a ADN-ului care apare în cancer este reprezentat de modificarea histonelor. Similar cu metilarea, modificarea histonelor afectează expresia genelor, perturbă transcripția și afectează homeostazia celulară, ducând la instabilitate cromozomială și stres de replicare. Histonele sunt eliminate într-un grup de 8 proteine care asigură o structură spre care ADN-ul este condensat în unitatea sa structurală, numită nucleozom.

Modificările reversibile ale histonelor sunt un eveniment important care

controlează accesul enzimelor la ADN și modulează apariția furcii de replicare, controlând astfel accesul factorilor de transcripție, activatorilor și receptorilor. Procesele care modifică histonele sunt reprezentate de: acetilare, metilare, fosforilare, ubiquitinare, SUMOizare, ribozilare ADP și altele. Aceste procese interacționează pentru a forma o semnătură unică a histonelor, care este specifică pentru anumite regiuni ale ADN. Această semnătură poate fi modificată prin enzime care modifică histonele, care pot adăuga sau elimina elemente, controlând astfel ambalarea ADN-ului și accesul la informațiile genetice. Această semnătură este decodificată în continuare de diferite proteine care pot activa procesele celulare, cum ar fi translația (Allis și Jenuwein, 2016; Farooqi et al., 2022).

Anomaliile în modificările histonelor sunt asociate cu anomalii în accesul la ADN care pot duce la dezvoltarea oncogenezei, a expresiei genetice dereglate care duce la anomalii celulare, inițierea cancerului, progresia și metastazarea (Chi et al., 2010).

5.2.3. Procese reversibile de deteriorare și reparare a ADN-ului în progresia cancerului

Deteriorarea ADN-ului este unul dintre mecanismele responsabile de instabilitatea genomică și care modifică mașinăria epigenetică. Nivelurile ridicate de deteriorare a ADN-ului se găsesc în celulele canceroase și sunt asociate cu defecte în replicare și o frecvență ridicată a erorilor și mutațiilor genomice (Pirlog et al., 2023).

Nivelurile ridicate de degradare a ADN-ului pot fi, de asemenea, induse de agenții chimioterapeutici cu scopul final de a limita replicarea și de a induce apoptoza. Un mecanism de protecție împotriva degradării ADN-ului este prin metilarea m6A. Enzima scriitor METTL3 s-a dovedit a fi implicată în modularea rezistenței la oxaliplatină în cancer, acționând asupra căii de deteriorare a ADN-ului. Unul dintre mecanismele propuse este prin reglarea expresiei enzimei UBE2B care este implicată în calea de degradare a ADN-ului (Li et al., 2022; Taketo et al., 2018).

Un grup de enzime implicate în reglarea mașinăriei epigenetice și, mai precis, impactul acesteia asupra acumulării de leziuni în ADN sunt demetilazele care catalizează procesul de demetilare printr-un proces de oxidare a aminei. Există două familii de histone, demetilaze: familia domeniului Jumonji și demetilazele dependente de flavină. Demetilazele dependente de flavine sunt reprezentate de demetilaza specifică lizinei 1 (LSD1) și demetilaza specifică lizinei 2 (LSD2), omologul său. LSD1 și LSD2 s-au dovedit a fi dereglate în mai multe tipuri de cancer gastro-intestinal, inclusiv cancer de colon și gastric. Aceste două enzime sunt, în general, supraexprimate în cancerurile umane și s-au dovedit a fi implicate în progresia timpurie a tumorii (Malagraba et al., 2022). LSD1 și LSD2 s-au dovedit a avea expresia controlată în diferite tipuri de cancer prin mai multe ARN-uri non-codante, cum ar fi microARN-urile,

ARN-urile lungi non-codante și lincRNA-urile.

LSD1 acționează asupra histonei mono și dimetilaze 3 lizină 4 (H3Kme1/2) și asupra histonei mono- și dimetilaze 3 lizină 9 (H3K9me1/2). H3Kme1/2 H3Kme1/2 este un activator al transcripției, iar H3K9me1/2 este o histonă implicată în inhibarea transcripției. Folosind activitatea sa de demetilare pe aceste două histone poate controla dinamica transcripției celulare. LSD2 catalizează demetilarea substratului său într-un proces de oxidare a aminei FAD (Niwa et al., 2018).

Acest proces de metilare și demetilare a histonelor este un proces reversibil sub reglare strictă realizată de mai multe enzime de reglare și este implicat în expresia genelor, repararea leziunilor ADN-ului, încrucișarea meiotică și funcția celulară.

În cancerul gastric, s-a demonstrat că LincRNAFEZF-AS1 modulează activitatea LSD1 pentru a hiperactiva celulele GC și a reprimă expresia p21 (Y. Liu et al., 2017). În mod similar, lncARN HOXA11-As, un lncARN care este supraexprimat în GC, modulează interacțiunea dintre LSD1 și EZH2 și influențează astfel procesul tranziției epitelial-mezenchimală care reglează proliferarea, migrația și invazia (Gong et al., 2019; M. Sun et al., 2016). În ceea ce privește microARN-urile, miR-137-3p este un miARN supresor tumoral care este, în general, reglat în jos în cancer. În cancerul colorectal, s-a demonstrat că reglează LSD1, care reduce adeziunea și mobilitatea celulelor (Malagraba et al., 2022).

5.3. Modificări reversibile ale ARN-ului și rolul lor în cancer

Există mai multe tipuri de ARN-uri descrise, cel mai important fiind ARN-ul mesager (ARNm), care transportă informațiile stocate în proteine către ribozomi pentru a fi traduse ulterior în proteine. Studiul modificărilor ARN devine recent un subiect fierbinte în cercetarea cancerului, cu peste 100 de tipuri de modificări ARN identificate până în prezent. Cel mai studiat tip este reprezentat de modificarea ARNm, care s-a dovedit a juca un rol crucial în dezvoltarea tumorii și dobândirea semnelor distinctive ale cancerului de către celulele tumorale. Metilarea ARNm este o modificare importantă a moleculelor de ARNm care reglează transcripția și expresia proteinelor în compartimentul citoplasmatic. În ciuda faptului că a fost descoperit în anii 1970, există încă multe necunoscute despre mecanismul precis și proteinele implicate în metilarea ARNm. Cu toate acestea, s-a observat că aceste modificări ale ARNm contribuie la dezvoltarea trăsăturilor canceroase prin vizarea componentelor celulare specifice (Farooqi et al., 2022).

Modificările ARN, în special modificarea dinamică și reversibilă a m6A, joacă roluri esențiale în reglarea post-transcripțională. Modificarea m6A influențează stabilitatea ARN-ului, îmbinarea, localizarea și eficiența translației. Alte modificări

reversibile ale ARN-ului, cum ar fi pseudouridilarea și metilarea, afectează structura și funcția ARN-ului, afectând diferite procese celulare.

5.3.1. Modificările ARN și efectele acestora asupra stabilității și translației ARN

ARN-ul mesager (ARNm) este vectorul principal al informațiilor genetice care transportă mesajul genomic de la unitatea centrală de stocare, ADN-ul, la proteinele funcționale care transcriu acest mesaj la proteinele funcționale. ARNm este predispus la procesele de metilare și demetilare, care îi sporesc complexitatea funcțională și îi influențează stabilitatea și funcția (Wang et al., 2014).

5.3.2. Modificarea N6-metiladenozinei (m6A) și impactul acesteia asupra metabolismului ARN și dezvoltării cancerului

M6A este cea mai importantă modificare a ARN-ului mesager (ARNm) care apare pe ARN-ul mesager. S-a demonstrat că influențează principalele mecanisme ale capacității ARN-ului mesager de a induce transcripția, dar mecanismele exacte de reglementare ale acestei modificări sunt încă în curs de investigare. Modificarea m6A este recunoscută în toate celulele umane prin proteine specifice prin legare selectivă care afectează funcția, capacitatea și stabilitatea ARN-ului mesager. Proteinele scriitor care adaugă metilul la ARNm sunt proteinele metiltransferazei, iar proteinele "radieră" care demetilează ARNm și cresc astfel capacitatea sa de translație sunt reprezentate de demetilaze precum FTO și ALKBH5 (Fang et al., 2022; Wang et al., 2014).

Scriitorii, radierile și cititorii m6A sunt actori-cheie în reglarea acestei modificări. Scriitorii, cum ar fi METTL3 și METTL14, sunt responsabili pentru adăugarea marcajului m6A la moleculele de ARN, în timp ce radierile, cum ar fi FTO și ALKBH5, elimină această modificare. Prezența scriitorilor și radierelor m6A permite reglarea dinamică a expresiei genelor, influențând diferite procese celulare în celulele canceroase. Dereglarea acestor enzime a fost asociată cu inițierea, creșterea și metastazarea tumorii (Fang et al., 2022). În plus, dereglarea acestor modificatori a fost asociată cu cititoarele m6A, inclusiv proteinele familiei domeniului YTH și proteinele familiei IGF2BP, care sunt esențiale pentru recunoașterea și interpretarea modificării m6A. Proteinele din familia domeniului YTH, cum ar fi YTHDF1, YTHDF2 și YTHDF3, s-au dovedit a avea atât efecte cancerigene, cât și anticarcinogene în cancer. Acestea pot influența stabilitatea, translația și degradarea ARNm, afectând astfel expresia genelor și comportamentul celular. Proteinele din familia IGF2BP, inclusiv IGF2BP1, IGF2BP2 și IGF2BP3, s-au dovedit a stabili moleculele de ARNm și a promova translația lor. Aceste proteine au fost implicate în progresia cancerului, iar expresia lor se corelează cu supraviețuirea generală slabă și prezența metastazelor în diferite tipuri

de cancer (Lederer et al., 2014).

Înțelegerea rolurilor modificatorilor m6A în dezvoltarea și progresia cancerului este crucială pentru decodificarea impactului lor posibil asupra rezultatelor pacienților și a regimurilor terapeutice. O mai bună înțelegere a rolurilor modificatorilor m6a poate duce la identificarea de noi vulnerabilități celulare care pot fi traduse în noi ținte anti-cancer.

Dereglarea modificatorilor m6A poate duce la modele aberante de expresie a genelor, contribuind la tumorigeneza cancerului. Direcționarea acestor enzime sau a căilor asociate acestora este promițătoare pentru intervențiile terapeutice țintite care pot influența cursul clinic în mai multe entități canceroase. În plus, sunt necesare cercetări suplimentare pentru a elucida diferențele funcționale dintre membrii familiei cititoarelor m6A.

5.3.3. Modificarea N6-metiladenozinei (m6A) și rolurile sale asupra rezistenței la medicamentele împotriva cancerului.

Modificarea ARN M6A joacă un rol semnificativ în rezistența la medicamente împotriva cancerului. Dereglarea metiltransferazelor ARN, demetilazelor și proteinelor de legare a m6A a fost implicată în dezvoltarea rezistenței la medicamente în celulele canceroase. Aceste modificări ale regulatorilor m6A pot afecta expresia genelor cheie implicate în metabolismul medicamentelor, eficacitatea medicamentelor și țintele medicamentelor, influențând astfel eficacitatea medicamentelor împotriva cancerului. De exemplu, reglarea ascendentă a metiltransferazei m6A METTL3 a fost asociată cu o rezistență crescută la medicamente în diferite tipuri de cancer, inclusiv cancerul pulmonar și leucemia mieloidă acută (Z. Liu et al., 2022; Uddin et al., 2019). Înțelegerea mecanismelor moleculare care stau la baza rezistenței la medicamente mediate de m6A poate oferi informații valoroase pentru dezvoltarea terapiilor vizate pentru a depăși rezistența.

Mecanismele prin care modificarea m6A afectează eficacitatea și rezistența la medicamente sunt multiple. Un mecanism este reprezentat de reglarea enzimelor care metabolizează medicamentele, cum ar fi citocromul P450, care este implicat în metabolizarea medicamentelor anti-cancer și influențează dinamica clearance-ului acestora. Modificările M6A ale acestor enzime pot modula expresia și activitatea care influențează capacitatea de metabolizare a medicamentelor anticanceroase și pot duce la rezistență chimioterapeutică. În plus, modificarea m6A poate influența expresia transportorilor de eflux multidrog, cum ar fi glicoproteina P, care pompează în mod activ medicamentele din celulele canceroase, reducând concentrația lor intracelulară și făcându-le mai puțin eficiente. Aceste constatări evidențiază

importanța modificării m6A în reglarea dispoziției și rezistenței la medicamente.

Țintirea modificării m6A a apărut ca o strategie promițătoare pentru a depăși rezistența la medicamente în terapia cancerului. Activatorii și inhibitorii moleculelor mici ai regulatorilor m6A au arătat efecte anticanceroase considerabile atunci când sunt utilizați singuri sau în combinație cu alți agenți anticanceroși. Metilarea genei *TP53* de către METTL3 s-a dovedit a induce transcripția unei proteine p53 mutante care este responsabilă de rezistența multidrog (Uddin et al., 2019, p. 53). Pe de altă parte, inhibarea METTL3 s-a dovedit a sensibiliza celulele canceroase rezistente la medicamente la chimioterapie. În plus, identificarea modificărilor specifice ale m6A asociate cu rezistența la medicamente poate servi drept biomarkeri potențiali pentru prezicerea răspunsului la tratament și ghidarea terapiei personalizate. Deși sunt necesare cercetări suplimentare pentru a înțelege pe deplin interacțiunea complexă dintre modificarea m6A și rezistența la medicamente, țintirea m6A are un mare potențial pentru îmbunătățirea eficacității tratamentelor pentru cancer.

5.4. Modificări reversibile ale proteinelor și rolul lor în cancer

O varietate de modificări reversibile ale proteinelor afectează expresia genelor. Modificările reversibile ale proteinelor sunt procese care modifică structura proteinelor într-un mod dinamic prin adăugarea sau eliminarea diferitelor enzime. Principalele mecanisme de modificare a proteinelor sunt reprezentate de: fosforilare, acetilare, metilare și ubiquitinare. Aceste mecanisme reglează activitatea proteinelor, localizarea lor compartimentală, stabilitatea și interacțiunile proteină-proteină.

5.4.1. Modificări post-tranlaționale ale histonelor

Modificările post-tranlaționale ale histonelor (PTM) sunt cruciale în reglarea expresiei genelor și a structurii cromatinei. Familia de histone include 6 tipuri principale de proteine care sunt implicate în menținerea cromatinei și a structurii ADN-ului. Configurația ADN-ului și structurile sale histonice pot influența capacitatea proteinelor cititoare de a iniția transcripția și expresia genelor. Eucromatina este un tip de cromatină mai slab pliată, care este mai accesibilă pentru transcripție și duce la o expresie genică mai mare, invers, heterocromatina este o formă condensată de cromatină cu disponibilitate limitată a ADN-ului pentru transcripție. Cele două conformații ale cromatinei sunt forme dinamice reglate îndeaproape de PTM în funcție de starea celulară.

Aceste PTM-uri sunt recunoscute de complexe proteice, cum ar fi complexe repressive policombe (RPC) și complexe de activare a leucemiei mixte

(MLL). PRC2 catalizează di- și trimetilarea histonei H3 la lizina 27 (H3K27me2 și H3K27me3), ceea ce duce la reducerea la tăcere a genelor. Pe de altă parte, metiltransferazele MLL / COMPASS acționează asupra histonei H3 la lizina 4 (H3K4), promovând transcripția activă a eucromatinei. PRC1 recunoaște H3K27me3 și promovează ambalarea cromatinei.

5.4.2. Acetilarea și deacetilarea proteinelor și impactul acestora asupra expresiei genice

Procesele de acetilare și deacetilare perturbă interacțiunile existente între histone și ADN, ceea ce afectează structura cromatinei, accesibilitatea la ADN și procesul de transcriere (Narita et al., 2019). Aceste două procese pot regla expresia genelor și pot avea un impact asupra inițierii și dezvoltării cancerului. Unul dintre principalele tipuri de acetilare este reprezentat de acetilarea lizinei, care reprezintă o adăugare a unui aminoacid lizină gruparea epsilon-amino, într-un proces reglementat de acetiltransferazele histone. Acetilarea histonelor este asociată cu starea eucromatinei și accesibilitatea la transcripție și expresia genelor înalte. Deacetilarea este procesul opus, care inversează structura cromatinei într-o stare mai compactă, ceea ce limitează accesibilitatea enzimelor replicative la ADN (Barnes et al., 2019). Dereglarea acetilării și deacetilării modifică structura cromatinei și accesul la transcripția ADN-ului, ducând la expresia genelor aberante și este asociată cu inițierea, dezvoltarea și progresia cancerului. De exemplu, mutațiile genelor familiei GNAT au fost asociate cu patogeneza cancerului în mai multe tipuri de cancer solid, cum ar fi colonul și plămânul (Mustachio et al., 2019).

Similar enzimelor de acetilare, modificarea enzimelor de deacetilare poate fi asociată cu progresia cancerului prin favorizarea apariției mutațiilor genomice și a modificărilor cromozomiale care au ca rezultat activarea oncogenelor și inițierea cancerogenezei (Cress & Seto, 2000). Modificările acestor enzime, atât cantitatea cât și activitatea, pot duce la transcrierea aberantă a oncogenelor. De exemplu, în mai multe tipuri de cancer, cum ar fi cel de prostata, gastric și de sân, nivelurile ridicate de histon-deacetilază au fost asociate cu un parcurs clinic agresiv și rezultate slabe ale tratamentelor.

5.4.3. Metilarea și demetilarea histonelor și influența lor asupra structurii cromatinei și reglării genelor

Metilarea și demetilarea histonelor reprezintă două modificări reversibile intens studiate, cu roluri importante în reglarea structurii cromatinei, accesul la ADN și transcrierea și translația ulterioară a genelor. Cele două procese au făcut obiectul mai

multor studii, iar rolul lor în cancer este stabilit în ultimii ani (Poulard et al., 2016; Varier & Timmers, 2011). Dereglarea metilării histonelor poate duce la expresia aberantă a genelor, ceea ce duce la activarea căilor celulare aberante și la proliferare celulară necontrolată, care, în prezența unor factori de stres suplimentari, poate duce la dezvoltarea și progresia cancerului. Dereglarea metilării histonelor duce la creșterea viabilității celulare și la rate mai mari de proliferare, acestea fiind și etapele inițiale ale transformării maligne. Rolurile importante ale metilării și demetilării histonelor asupra proceselor celulare esențiale și rolurile lor în progresia și dezvoltarea cancerului le fac ținte atractive pentru terapia cancerului.

5.4.4. Ubiquitinarea și deubiquitinarea în degradarea proteinelor și homeostazia celulară.

Ubiquitinarea și deubiquitinarea sunt două procese de marcare celulară care sunt implicate în reglarea degradării proteinelor. Procesul de ubiquitinare implică atașarea unui mic fragment de proteină, numit ubiquitin, la o proteină de interes. Această etichetare specifică a proteinelor va declanșa degradarea proteinelor prin proteazom sau lizozom. Procesul de ubiquitinare este un mecanism complex strict reglat de o serie de enzime: E1 (enzima care activează ubiquitina), E2 (enzima conjugată cu ubiquitina) și E3 (ligaza ubiquitin). Adăugarea lanțului de ubiquitină la proteina țintă reprezintă un semnal puternic pentru mecanismul de degradare a proteinelor celulare (Han et al., 2022; T. Sun et al., 2020).

Procesul de ubiquitinare este esențial pentru homeostazia celulară prin identificarea proteinelor pliate greșit sau traduse aberant, marcarea lor și ghidarea degradării lor. Acest proces asigură menținerea funcțiilor celulare. Ubiquitinarea proteinelor este esențială pentru controlul ciclului celular, repararea daunelor ADN-ului, transducția semnalului și evitarea dereglărilor care pot duce la dezvoltarea cancerului. Defectele căii de ubiquitinare pot duce la acumularea de proteine aberante sau pliate greșit, care afectează homeostazia celulară și induce stres celular, crescând nivelurile de deteriorare a ADN-ului, ducând în cele din urmă la moartea celulelor, stres de replicare sau activarea aberantă a căilor oncogenetice care duc la cancer (Han et al., 2022).

Deubiquitinarea face parte din calea ubiquitinării care reprezintă procesul opus de ubiquitinare, în care proteinele care au fost etichetate și pregătite pentru degradare au molecula de ubiquitină eliminată. Procesul este coordonat de enzime deubizuitinante (DUB), o familie de peste 100 de membri, inclusiv proteaze specifice ubiquitinei (USP), hidrolazelor C-terminale ubiquitin (UCH), proteazelor din domeniul tumorilor ovariene (OTU), proteazelor din domeniul Machado-Joseph (MJD),

metaloenzimelor JAB1 / MPN / MOV34 (JAMM) (Ge et al., 2022). DUB-urile împreună cu enzimele de ubiquitinare participă la multiple procese celulare, fiind esențiale pentru menținerea homeostaziei (Basu și Ghosh, 2022). DUB-urile au fost studiate intens în cancer, deoarece joacă roluri importante în rezistența la medicamente împotriva cancerului, unde acționează asupra proteinelor specifice și mențin căile active implicate în rezistența la medicamente, cum ar fi Wnt- β catenină și căi PI3K-AKT. Noi strategii terapeutice caută modalități de dezvoltare a anti-DUB-urilor care ar putea fi făcute în plus față de agenții chimioterapeutici pentru a limita dezvoltarea rezistenței (Ge et al., 2022).

În concluzie, ubiquitinarea și deubiquitinarea sunt două procese dinamice și reversibile implicate în reglarea disponibilității proteinelor în celulă și esențiale pentru homeostazia celulară. Ambele sunt mecanisme de captare care ajută celula să scape de proteinele modificate sau utilizate, dar pot, de asemenea, contracara prin menținerea nivelului celular al unei proteine specifice și făcând acest lucru pentru a menține activate diferite căi. În cancer, aceste două procese s-au dovedit a fi dereglate și duc la acumularea de leziuni ale ADN-ului, stres celular, diviziune modificată și dezvoltarea tumorii. Procesul de deubiquitinare s-a dovedit a fi unul dintre mecanismele cheie implicate în rezistența la medicamente, iar noi strategii sunt în prezent în curs de investigare care vizează blocarea acestui proces și restabilirea sensibilității chimioterapeutice.

5.5. Medicamente epigenetice

Modificările posttranslaționale histonice sunt un factor important care influențează stabilitatea structurală a cromatinei și, prin urmare, expresia genelor, inclusiv răspunsul celular la factorii de stres externi, cum ar fi medicamentele chimioterapeutice. Avantajul medicamentelor epigenetice care se vor concentra pe modificări reversibile este că vor avea capacitatea de a inversa temporar fenotipul celular al cancerului pentru a spori ținta prin agenți chimioterapeutici clasici, cu posibile efecte secundare limitate (Neganova et al., 2022).

Țintirea enzimelor scriitoare și eliminatoare a devenit o abordare atractivă în ultimii ani, ca urmare a unei mai bune înțelegeri a rolurilor lor în progresia cancerului. Una dintre aceste ținte este reprezentată de METTL3, care este o enzimă esențială asociată cu rezistența la mai multe medicamente, iar printre țintele sale se numără *TP53*. În urma unui screening inițial realizat de Bedi și colab. a peste 4000 de compuși, au reușit să identifice S-adenozil-L-metionină (SAM) care poate ținti eficient METTL3 (Bedi et al., 2020). Aceste anti-METTL3 au arătat efecte promițătoare anti-cancer.

Implicații terapeutice: Modificările reversibile oferă ținte potențiale pentru

terapia cancerului. Modularea modificărilor proteinelor, cum ar fi utilizarea inhibitorilor kinazei sau a inhibitorilor histon-deacetilazei, poate restabili căile normale de semnalizare. Modificatorii epigenetici care vizează modificările ADN-ului și histonelor s-au dovedit promițători în terapiile bazate pe epigenetică. În plus, țintirea modificărilor ARN deține potențialul de a dezvolta noi strategii anticancer.

Concluzie

5.6.1. Recapitularea punctelor-cheie discutate în capitol

Înțelegerea modificărilor reversibile și a semnificației acestora în biologia cancerului este crucială pentru identificarea de noi ținte terapeutice, îmbunătățirea abordărilor de diagnosticare și dezvoltarea strategiilor personalizate de tratament. Dereglarea modificărilor reversibile contribuie la complexitatea și heterogenitatea cancerului, subliniind necesitatea unor cercetări suplimentare pentru a descoperi mecanismele subiacente și potențialele intervenții terapeutice.

În ultimii ani, creșterea disponibilității tehnologiilor cu randament ridicat a accelerat și extins cunoștințele privind mecanismele de reprogramare epigenetică și a condus la o înțelegere moleculară mai aprofundată a acestor evenimente. Folosind aceste tehnologii, a devenit posibilă căutarea unor biomarkeri specifici care pot defini subgrupuri de prognostic, semnături de diagnostic și pot prezice răspunsul la diferite medicamente țintite.

Principala caracteristică a modificărilor epigenetice este reversibilitatea lor, ceea ce face ca decodificarea lor să fie o abordare atractivă, deoarece reprogramarea poate limita dezvoltarea cancerului și poate fi exploatată în continuare prin noi abordări de dezvoltare a medicamentelor. În ultimii ani, mai multe companii farmaceutice s-au lansat cu scopul specific de a viza mașinăria epigenetică.

Una dintre întrebările care rămân cu privire la direcționarea modificărilor reversibile ca terapie potențială a cancerului se referă la sensibilitate și specificitate. După cum am văzut, aceste modificări sunt importante și în fiziologia celulară și pot modifica funcțiile normale ale diferitelor celule. Noile medicamente epigenetice trebuie să ia în considerare posibilele efecte secundare asupra țesutului normal înconjurător și impactul pe care acestea l-ar putea avea asupra organelor din afara țintei.

5.6.2. Direcții viitoare și progrese potențiale în înțelegerea modificărilor reversibile și a cancerului.

În prezent, ne aflăm în era tehnologiilor cu randament ridicat în cercetarea și diagnosticarea cancerului, care generează cantități uriașe de date bazate pe secvențierea ADN și ARN. Deoarece cancerul este un ecosistem complex, cu populații eterogene multiple, care își schimbă stările cu viteză mare, sunt necesare tehnologii

noi și mai precise care pot identifica fenotipurile unicelulare. Această abordare devine posibilă datorită noilor tehnologii de secvențiere unicelulară cu rezoluție spațială, așa-numitele tehnologii transcriptomice spațiale. Aceste abordări oferă, în plus față de informațiile genomice la nivelul unei singure celule, poziția lor spațială în micromediul tumoral. Noile studii care utilizează aceste tehnologii ne vor permite să mărim imaginea la nivelul unei singure celule și să înțelegem schimbările epigenetice care apar atât în populațiile tumorale, cât și în celulele micromediului tumoral. Această abordare moleculară unicelulară ne va permite să disecăm la nivel molecular mecanisme complexe de diferențiere a tumorii, metastaze și rezistență la medicamente specifice. Prin cartografierea tuturor celulelor dintr-un micromediu tumoral, vom avea posibilitatea de a identifica clonele maligne rezistente responsabile de recidiva tumorală la începutul dezvoltării tumorii și de a ne adapta strategiile de tratament în consecință.

Una dintre abordările care permit evaluarea modificărilor epigenetice este testul de secvențiere a cromatinei accesibile transpozazei (ATAC-seq) la nivel unicelular (scATAC-seq). Folosind această abordare, Litzenburger și colab. au arătat că diferite populații de celule canceroase prezintă răspunsuri speciale la medicamentele anti-cancer, care depind de profilul lor epigenomic particular (Litzenburger et al., 2017). Folosind secvențierea cromatinei uninucleare, autorii au reușit să identifice semnături specifice ale celulelor adenocarcinomului ductal pancreatic care sunt asociate cu proliferarea și pot fi utilizate ca posibili biomarkeri. Viitorul medicinei personalizate va presupune o integrare a tehnologiilor actuale cu randament ridicat cu informațiile obținute de la secvențierea unei singure celule, cu informațiile pe care le putem despre celulele micromediului tumoral și tumoral și folosind analiza bioinformatică și algoritmi de învățare automată pentru a obține rezultatele corecte care pot decodifica misterele rămase ale tumorigenezei și parcursului clinic.

Bibliografie

Allis, C. D., & Jenuwein, T. (2016). The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nature Reviews. Genetics*, 17(8), 487–500. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.59>

Antequera, F., & Bird, A. (2018). CpG Islands: A Historical Perspective. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1766, 3–13. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7768-0_1

Barnes, C. E., English, D. M., & Cowley, S. M. (2019). Acetylation & Co: An expanding repertoire of histone acylations regulates chromatin and transcription. *Essays in Biochemistry*, 63(1), 97–107. <https://doi.org/10.1042/EBC20180061>

Basu, B., & Ghosh, M. K. (2022). Ubiquitination and deubiquitination in the regulation of epithelial-mesenchymal transition in cancer: Shifting gears at the molecular level. *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Cell Research*, *1869*(7), 119261. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2022.119261>

Bedi, R. K., Huang, D., Eberle, S. A., Wiedmer, L., Śledź, P., & Caflisch, A. (2020). Small-Molecule Inhibitors of METTL3, the Major Human Epitranscriptomic Writer. *ChemMedChem*, *15*(9), 744–748. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202000011>

Berdasco, M., & Esteller, M. (2019). Clinical epigenetics: Seizing opportunities for translation. *Nature Reviews. Genetics*, *20*(2), 109–127. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0074-2>

Chi, P., Allis, C. D., & Wang, G. G. (2010). Covalent histone modifications—Miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers. *Nature Reviews. Cancer*, *10*(7), 457–469. <https://doi.org/10.1038/nrc2876>

Cress, W. D., & Seto, E. (2000). Histone deacetylases, transcriptional control, and cancer. *Journal of Cellular Physiology*, *184*(1), 1–16. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4652\(200007\)184:1<1::AID-JCP1>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(200007)184:1<1::AID-JCP1>3.0.CO;2-7)

Davalos, V., & Esteller, M. (2022). Cancer epigenetics in clinical practice. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. <https://doi.org/10.3322/caac.21765>

Fang, Z., Mei, W., Qu, C., Lu, J., Shang, L., Cao, F., & Li, F. (2022). Role of m6A writers, erasers and readers in cancer. *Experimental Hematology & Oncology*, *11*(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s40164-022-00298-7>

Farooqi, A. A., Fayyaz, S., Poltronieri, P., Calin, G., & Mallardo, M. (2022). Epigenetic deregulation in cancer: Enzyme players and non-coding RNAs. *Seminars in Cancer Biology*, *83*, 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.07.013>

Ge, F., Li, Y., Yuan, T., Wu, Y., He, Q., Yang, B., & Zhu, H. (2022). Deubiquitinating enzymes: Promising targets for drug resistance. *Drug Discovery Today*, *27*(9), 2603–2613. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.06.009>

Gong, A., Huang, Z., Ge, H., Cai, Y., & Yang, C. (2019). The carcinogenic complex IncARN DUXAP8/EZH2/LSD1 accelerates the proliferation, migration and invasion of colorectal cancer. *Journal of B.U.ON.: Official Journal of the Balkan Union of Oncology*, *24*(5), 1830–1836.

Han, S., Wang, R., Zhang, Y., Li, X., Gan, Y., Gao, F., Rong, P., Wang, W., & Li, W. (2022). The role of ubiquitination and deubiquitination in tumor invasion and metastasis. *International Journal of Biological Sciences*, *18*(6), 2292–2303. <https://doi.org/10.7150/ijbs.69411>

Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*, *12*(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>

Holliday, R. (1987). The inheritance of epigenetic defects. *Science (New York, N.Y.)*, *238*(4824), 163–170. <https://doi.org/10.1126/science.3310230>

Lederer, M., Bley, N., Schleifer, C., & Hüttelmaier, S. (2014). The role of the oncofetal IGF2 mRNA-binding protein 3 (IGF2BP3) in cancer. *Seminars in Cancer Biology*, *29*, 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.semcan.2014.07.006>

Li, H., Wang, C., Lan, L., Yan, L., Li, W., Evans, I., Ruiz, E. J., Su, Q., Zhao, G., Wu, W., Zhang, H., Zhou, Z., Hu, Z., Chen, W., Oliveira, J. M., Behrens, A., Reis, R. L., & Zhang, C. (2022). METTL3 promotes oxaliplatin resistance of gastric cancer CD133+ stem cells by promoting PARP1 mRNA stability. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, *79*(3), 135. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04129-0>

Litzenburger, U. M., Buenrostro, J. D., Wu, B., Shen, Y., Sheffield, N. C., Kathiria, A., Greenleaf, W. J., & Chang, H. Y. (2017). Single-cell epigenomic variability reveals functional cancer heterogeneity. *Genome Biology*, *18*(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1133-7>

Liu, Y., Xia, R., Lu, K., Xie, M., Yang, F., Sun, M., De, W., Wang, C., & Ji, G. (2017). LincRNAFEZF1-AS1 represses p21 expression to promote gastric cancer proliferation through LSD1-Mediated H3K4me2 demethylation. *Molecular Cancer*, *16*(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0588-9>

Liu, Z., Zou, H., Dang, Q., Xu, H., Liu, L., Zhang, Y., Lv, J., Li, H., Zhou, Z., & Han, X. (2022). Biological and pharmacological roles of m6A modifications in cancer drug resistance. *Molecular Cancer*, *21*(1), 220. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01680-z>

Malagraba, G., Yarmohammadi, M., Javed, A., Barceló, C., & Rubio-Tomás, T. (2022). The Role of LSD1 and LSD2 in Cancers of the Gastrointestinal System: An Update. *Biomolecules*, *12*(3), 462. <https://doi.org/10.3390/biom12030462>

Mattei, A. L., Bailly, N., & Meissner, A. (2022). DNA methylation: A historical perspective. *Trends in Genetics: TIG*, *38*(7), 676–707. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2022.03.010>

Mustachio, L. M., Roszik, J., Farria, A. T., Guerra, K., & Dent, S. Y. (2019). Repression of GCN5 expression or activity attenuates c-MYC expression in non-small cell lung cancer. *American Journal of Cancer Research*, *9*(8), 1830–1845.

Narita, T., Weinert, B. T., & Choudhary, C. (2019). Author Correction: Functions and mechanisms of non-histone protein acetylation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *20*(8), Article 8. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0156-9>

Neganova, M. E., Klochkov, S. G., Aleksandrova, Y. R., & Aliev, G. (2022). Histone modifications in epigenetic regulation of cancer: Perspectives and achieved progress. *Seminars in Cancer Biology*, *83*, 452–471. <https://doi.org/10.1016/j.semcan.2020.07.015>

Niwa, H., Sato, S., Hashimoto, T., Matsuno, K., & Umehara, T. (2018). Crystal Structure of LSD1 in Complex with 4-[5-(Piperidin-4-ylmethoxy)-2-(p-tolyl)pyridin-3-yl]benzotrile. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *23*(7), 1538. <https://doi.org/10.3390/molecules23071538>

Pirlog, B. O., Ilut, S., Pirlog, R., Chiroi, P., Nutu, A., Radutiu, D. I., Cuc, G. D., Berindan-Neagoe, I., Nabavi, S. F., Filosa, R., & Nabavi, S. M. (2023). New perspective on DNA response pathway (DDR) in glioblastoma, focus on classic biomarkers and emerging roles of ncRNAs. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, *25*, e18. <https://doi.org/10.1017/erm.2023.10>

Poulard, C., Corbo, L., & Le Romancer, M. (2016). Protein arginine methylation/demethylation and cancer. *Oncotarget*, *7*(41), 67532–67550. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11376>

Sun, M., Nie, F., Wang, Y., Zhang, Z., Hou, J., He, D., Xie, M., Xu, L., De, W., Wang, Z., & Wang, J. (2016). LncRNA HOXA11-AS Promotes Proliferation and Invasion of Gastric Cancer by Scaffolding the Chromatin Modification Factors PRC2, LSD1, and DNMT1. *Cancer Research*, *76*(21), 6299–6310. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-0356>

Sun, T., Liu, Z., & Yang, Q. (2020). The role of ubiquitination and deubiquitination in cancer metabolism. *Molecular Cancer*, *19*(1), 146. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01262-x>

Taketo, K., Konno, M., Asai, A., Koseki, J., Toratani, M., Satoh, T., Doki, Y., Mori, M., Ishii, H., & Ogawa, K. (2018). The epitranscriptome m6A writer METTL3 promotes chemo- and radioresistance in pancreatic cancer cells. *International Journal of Oncology*, *52*(2), 621–629. <https://doi.org/10.3892/ijo.2017.4219>

Uddin, M. B., Roy, K. R., Hosain, S. B., Khiste, S. K., Hill, R. A., Jois, S. D., Zhao, Y., Tackett, A. J., & Liu, Y.-Y. (2019). An N6-methyladenosine at the transited codon 273 of p53 pre-mRNA promotes the expression of R273H mutant protein and drug resistance of cancer cells. *Biochemical Pharmacology*, *160*, 134–145. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.12.014>

Varier, R. A., & Timmers, H. T. M. (2011). Histone lysine methylation and demethylation pathways in cancer. *Biochimica Et Biophysica Acta*, *1815*(1), 75–89. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2010.10.002>

Wang, X., Lu, Z., Gomez, A., Hon, G. C., Yue, Y., Han, D., Fu, Y., Parisien, M., Dai, Q., Jia, G., Ren, B., Pan, T., & He, C. (2014). N6-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature*, *505*(7481), 117–120. <https://doi.org/10.1038/nature12730>

6. Genomul non-codificator. Mecanisme de transcriere

Ioana Berindan-Neagoie¹

¹Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Introducere

Studiul funcțiilor **transcripției** și a moleculelor de **ARN non-codificatoare** pe care le generează este un domeniu activ de cercetare. Acești transcripți sunt cunoscuți ca fiind implicați în diferite procese biologice, mecanisme de reglare și căi de semnalizare, ceea ce le face potențiale ținte terapeutice de interes pentru cercetarea medicală. Studiarea complexității transcripției omniprezente ne ajută să înțelegem modul în care genele sunt reglate și cum influențează funcționalitatea celulelor.

Transcrierea omniprezentă este un termen folosit în biologia moleculară pentru a descrie transcrierea pe scară largă a genomului (Clark et al., 2011). Transcrierea informațiilor genetice era cunoscută ca fiind obligatorie pentru sinteza proteinelor. În timp ce Proiectul Genomului Uman, finalizat la începutul secolului XXI, a deschis o cutie complexă de informații despre codificarea genelor codificatoare în structuri proteice, a arătat, de asemenea, că aproximativ 1,2% din genomul mamiferelor codifică secvențele de aminoacizi numite proteine și 80% din genom este transcris (Lybecker, Bilusic, & Raghavan, 2014). Fără transcrierea informațiilor genetice și genomice de la ADN la moleculele de ARN, proteinele ar putea fi limitate ca urmare a activității de translație.

Transcrierea omniprezentă, se referă la observația că genomul este transcris în ARN. Cu toate acestea, anumite structuri de ARN nu vor suferi un proces de translație pentru sinteza proteinelor (Rabany & Nachmani, 2023). Mecanismele de transcripție reprezintă unul din subiectele cele maim ult abordate in cercetarea fundamentală în domeniul biomedical datorită interesului extins pentru patologiiile cu component genetică, genomică.

Până nu demult, cunoștințele noastre legate de transcrierea genomului au fost legate de genele care codifică proteinele, oglindind dogma biologiei moleculare. Odată cu dezvoltarea de noi tehnologii omice cu randament ridicat, cum ar fi microarray, secvențierea de nouă generație, secvențierea Nanopore, analiza droplet PCR a fost stabilit faptul că cea mai mare parte a genomului este transcrisă. Acest lucru a permis descoperirea unei noi clase de molecule cu un rol important în funcția genomului, numite ARN-uri non-codificatoare. ARN-urile non-codificatoare nu codifică proteinele, dar pot avea funcții importante în reglarea nivelului de expresie al genelor

de codificare și a funcțiilor lor de reglare celulară (Jensen, Jacquier & Libri, 2013). ARN-uri non-codificatoare reprezintă ARN-urile cu funcții stabilite, cum ar fi ARNt, ARNr, snRNA și snoARN. Ele sunt produse din ansambluri mici de ARN-uri. Aceste ARN-uri non-codificatoare nu codifică proteinele, dar pot avea funcții importante de reglementare, propunându-le potențial pentru investigații suplimentare drept candidați sau ținte terapeutice (B. Chen et al., 2022).

Semnificația și relevanța funcțională a transcrierii omniprezente sunt încă studiate și dezbătute în mod activ în comunitatea științifică. În timp ce unele ARN-uri non-codificatoare s-au dovedit a avea roluri importante în procesele celulare, funcțiile multor regiuni ale genomului transcrise rămân neclare. Cercetările în curs de desfășurare își propun să elucideze mecanismele și implicațiile funcționale ale transcripției omniprezente și impactul acesteia asupra reglării genelor și a proceselor celulare.

Secvențele intergenice, respectiv secvențele dintre genele din genomul uman, cuprind o porțiune mare a genomului. Până de curând, secvențele intergenice au fost considerate a fi "junk ADN" tăcut din punct de vedere transcripțional, dar s-a descoperit că secvențele intergenice pot fi, de asemenea, capabile de transcriere. În procesul de asamblare a Transcriptomului Novo folosind datele ARN-Seq, în studiul lui M. McManus, au reușit să determine că regiunile intergenice Enrode Far Long Intergenic Noncoding RNAs (LINCRNAS) comparativ cu ceea ce a fost raportat anterior, rezolvând discrepanța dintre cantitatea enormă de lincRNA intergenice observate și cunoscute. Ca rezultat al muncii lor, au fost identificate multe lincARN presupuse cu un număr minim de copii de unul pe celulă, depășind în mod semnificativ adnotările anterioare ale lincRNA (Hangauer, Vaughn & McManus, 2013).

În plus față de gama diversă de molecule de ARN non-codificatoare generate prin transcripție omniprezentă, diferite categorii de transcrieri se încadrează în acest termen umbrelă.

6.1. ARN-uri lungi non-codificatoare (lncARN)

Acestea sunt molecule de ARN cu secvențe mai lungi de 200 de nucleotide, cunoscute până acum ca necodificând proteinele. Ca și alte clase non-codificatoare, ARNlnc joacă roluri în nivelurile de expresie ale genelor și evenimentele epigenetice. Unele ARNlnc au fost implicate în cancer, boli imune, boli cardiovasculare și tulburări neurologice. După cum s-a menționat anterior, ARNlnc pot recruta factori epigenetici pentru a modifica starea cromatinei (J. Li & Liu, 2019). La nivel molecular, ARN-urile lungi non-codificatoare (lncARN) sunt strâns legate de ARN-urile mesager. Ele sunt create de **transcriere omniprezentă**, cu toate acestea, ele funcționează prin mecanisme în mare parte necunoscute pentru funcția lor. Pe baza modelului actual,

ARNinc funcționează adesea prin secvențe și / sau structuri specifice care sunt conservate, scurte și adesea legate prin legături, ceea ce este cazul chiar dacă secvențele și / sau structurile specifice sunt mai puțin semnificative. Multe metode computaționale și experimentale au fost dezvoltate pentru a descoperi elemente funcționale în genele lncARN folosind o varietate de semnale. Aceste semnale includ conservarea evolutivă, elementele structurale prezise sau posibilitatea salvării fenotipurilor afectate de pierderea funcției (Ross & Ulitsky, 2022). S-a constatat că ARN-urile lungi non-codificatoare (lncARN) pot influența programele celulare printr-o varietate de mecanisme transcripționale și post-transcripționale. Transcrierile lungi non-codificatoare sunt responsabile pentru multe funcții care apar în fiecare etapă de dezvoltare și homeostazie a sistemului nervos central, în special a creierului. În special, speciile de lncARN sunt relevante din punct de vedere funcțional pentru diferite regiuni ale creierului datorită rolului lor la nivel nuclear. În plus, ele sunt implicate în transportul, traducerea și descompunerea altor transcrieri în regiuni neuronale specifice. Diferitele regiuni ale creierului sunt influențate de expresia genelor legate de aceste specii într-o manieră spațio-temporală. Cercetările în domeniu au permis identificarea contribuțiilor ARNinc specifice la anumite boli ale creierului, inclusiv boala Alzheimer, boala Parkinson, cancerul și tulburările de neurodezvoltare. Acest lucru a dus la dezvoltarea unor strategii terapeutice care vizează aceste ARN-uri pentru a recupera fenotipul normal. În acest articol, am rezumat cele mai recente descoperiri mecaniciste ale ARNinc în creier, în special cele care se referă la dereglarea lor în tulburările de neurodezvoltare și bolile neurodegenerative, utilitatea lor potențială pentru strategiile terapeutice *in vitro* și *in vivo* ca biomarkeri pentru tulburările care afectează sistemul nervos central (SNC) (Srinivas, Mathias, Oliveira-Mateos & Guil, 2023). Este pertinent să se atragă atenția în mod special asupra unor ARNinc cu roluri structurale cruciale pentru funcția creierului. Ansamblul nuclear paraspeckle lncARN, NEAT1 și transcrierea adenocarcinomului pulmonar metastatic 1, MALAT1, sunt două lncARN foarte conservate și foarte exprimate care acționează structural și reglează procesele specifice din nucleu. Chiar dacă lncARN-urile sunt omniprezente în tot corpul uman, cele care locuiesc în cortexul creierului sunt printre cele mai abundente lncARN-uri. Ca rezultat, ele joacă un rol crucial în funcționarea normală a neuronilor și fiziopatologia tulburărilor neurologice. Speckles și paraspeckles, două domenii subnucleare esențiale nucleului, cuprind fracțiunea ARN majoră a MALAT1 și NEAT1. Ca urmare a acestor domenii, proteinele de legare a ARN-ului, factorii de transcripție și ARNm se pot coordona cu localizarea și fosforilarea factorilor de îmbinare. Deși rolurile proeminente ale MALAT1 în neuropatologie sunt bine stabilite, funcția MALAT1 și impactul dereglării au fost studiate mai ales în cancer. Prin contrast, impactul funcției NEAT1 în SNC merită o mențiune specială atunci când se iau în considerare bazele

moleculare ale neuropatologiei. NEAT1 poate contribui la faza regiunilor intrinsec dezordonate. Ca rezultat al asamblării ribonucleoproteinei celulare, se formează un mediu ribonucleoproteic non-membranos, care oferă o platformă flexibilă pentru inserarea unei mari varietăți de proteine și acizi nucleici în timpul procesului de asamblare a ribonucleoproteinei celulare. Legarea NEAT1 facilitează, de exemplu, tendința de condensare a unei proteine cunoscute sub numele de proteină de legare a ADN-ului cu răspuns transactiv de 43 kDa (TDP43), care este o proteină implicată în reglarea îmbinării ADN și ARN, formând corpuri nucleare protectoare atunci când sunt stresate, defecte în care (cum ar fi fosforilarea aberantă, citoplasma mislocalizată și agregarea) contribuie la dezvoltarea sclerozei laterale amiotrofice (Srinivas et al., 2023). H19, unul dintre cele mai frecvent investigate lncARN, este studiat pe larg în mai multe afecțiuni maligne. Nivelul său de expresie este supraexprimată semnificativ în comparație cu țesutul de origine adiacent normal. H19 este legată de diferite semne distinctive ale progresiei tumorii, începând cu proliferarea celulară, apoptoza, invazia, metastazele și chimiorezistența. Totuși, rolul și mecanismul pentru care H19 funcționează în reglarea genelor și dezvoltarea tumorii rămân neclare. H19 lncARN este atât o oncogenă, cât și un supresor tumoral în multe afecțiuni maligne. Acest lucru se datorează probabil reglării transcripției genelor țintă, stabilității ARNm, îmbinării și inhibării competitive a degradării ARN endogene. În plus față de rolul său în proliferarea celulelor, apoptoza, inițierea tumorii, migrarea, invazia, metastazele și alte procese biologice importante, proteina H19 este, de asemenea, implicată în chimiorezistență și alte procese (R. Zhang, Zeng & Deng, 2022).

6.2. ARN-uri nucleolare mici (snoARN)

Acestea sunt molecule mici de ARN care ghidează modificările chimice, cum ar fi metilarea sau pseudouridilarea, altor molecule de ARN. Acestea sunt implicate predominant în procesarea și modificarea ARN-ului ribozomal (ARNr) și a ARN-ului de transfer (ARNt). ARN-urile nucleolare mici (snoARN) sunt o clasă de molecule de ARN non-codificatoare găsite în nucleolul celulelor eucariote. Descoperite inițial în anii 1980, ele sunt un grup divers de ARN-uri mici care joacă roluri importante în modificarea post-transcripțională și procesarea ARN ribozomal (ARNr), esențiale pentru biogeneza ribozomilor și sinteza proteinelor. SnoARN-urile au de obicei o lungime de 60-300 de nucleotide și sunt transcrise din regiuni specifice ale genomului ADN. Acestea fac parte din particule mici de ribonucleoproteină nucleolară (snoRNP), constând din snoARN și proteinele asociate. Aceste snoRNP ghidează modificarea și procesarea ARNr prin direcționarea enzimelor către locuri specifice de pe molecula de ARNr. Există două clase principale de snoARN bazate pe funcțiile lor (Candelli, Gros & Libri, 2018; Ojha, Malla & Lyon, 2020).

SnoARN-uri C / D "box" ghidează metilarea- O-2' a nucleotidelor specifice pe ARNr. Acestea conțin motive "box" caracteristice C (conservate) și D (degenerate) și sunt numite după aceste elemente conservate. SnoARN-urile C / D "box" vizează ARNr 28S, 18S și 5.8S ale nucleolului (Falaleeva, Welden, Duncan, & Stamm, 2017).

SnoARN-uri H/ACA box ghidează pseudouridilarea nucleotidelor specifice pe ARNr. Acestea conțin motive "box" H (foarte conservate) și ACA și sunt denumite în consecință. SnoARN-urile H/ACA "box" vizează în primul rând aceleași molecule de ARNr ca și snoARN-urile C/D "box", dar pot ghida și modificări în alte ARN-uri nucleare mici (Massenet, Bertrand & Verheggen, 2017).

SnoARN-urile nu se limitează la rolul lor în biogeneza ribozomilor. De-a lungul anilor, cercetările au relevat funcții suplimentare ale snoARN-urilor în diferite procese celulare, extinzându-le importanța dincolo de modificarea ARNr. Unele dintre celelalte funcții ale snoARN includ:

Asamblarea spliceozomilor. Anumite snoARN-uri se pot asocia cu ARN-uri nucleare mici (snRNA) pentru a facilita asamblarea spliceozomului, un complex mare implicat în îmbinarea ARN. Acest proces este esențial pentru eliminarea intronilor din pre-ARNm pentru a genera ARNm matur.

Modificarea ARNm. Unele snoARN-uri s-au dovedit a ghida modificările moleculelor de ARN mesager (ARNm), ceea ce duce la modificarea stabilității, eficienței translației și sintezei proteinelor.

Întreținerea telomerilor. SnoARN au fost implicați în menținerea și reglarea telomerilor, care joacă un rol în îmbătrânirea celulară și stabilitatea cromozomilor.

Reglarea epigenetică. Unele snoARN-uri reglează epigenetica prin ghidarea metilării ADN-ului sau modificarea histonelor.

Apărarea virală. Anumite snoARN-uri, în special la plante, participă la mecanismul de apărare antivirală prin direcționarea ARN-ului viral pentru degradare.

Numele SNORD	Structură și localizare	Rol	Ref
SNORD115	HBII-52; snoARN C /D "box" 15Q11-13 CCR	Sindromul Prader-Willi, copie paternă ștersă, pierderea SNORD115	(Hebras et al., 2020)

SNORD116	15Q11-13	Sindromul Prader Willi, pierderea SNORD116 asociată cu obezitatea și hiperfagia	(Burnett & colab., 2017; Burnett et al., 2016)
U3 snoARN	snoARN C /D "box" – biogeneza ribozomilor; 2'-O-metilarea nucleotidelor specifice în ARNr 18S	Sinteza proteinelor	(Clerget et al., 2020; Lemus-Diaz, Ferreira, Bohnsack, Gruber și Bohnsack, 2020)
SNORA42	Cutia snoARN H/ACA "box" – ghidează pseudouridilarea ARNr.	Menținerea integrității nucleare	(Mei et al., 2012)
SNORD47	snoARN C /D "box"	Maturarea și funcția unității ribozomale mari	(Ghaffari, Bashash, Dizaji, Ghavamzadeh & Alimoghaddam, 2012; Xu et al, 2017)
SNORA10	"box" H/ACA ghidează pseudouridilarea în ARNr și snRNA	Buna funcționare în translație și îmbinarea ARN	(Nikas & Nikas, 2019; Schulten et al., 2017)
SNORD3A	snoARN C/D "box" ghidează metilarea 2'-O în ARNr 18S	Biogeneza ribozomilor și sinteza proteinelor	(Cohen et al., 2013; Luo et al., 2020)
SNORD89	"box" H/ACA – pseudouridilare	Maturarea și funcția subunității ribozomale mari	(Bao et al., 2022; Zhu et al., 2019)
SNORA24	C/D "box" – țintește ARNr 18S	Asamblarea ribozomilor funcționali	(McMahon et al., 2019; L. Shen et al., 2022)
SNORA56	"box" H/ACA	Stabilitatea și funcția ARN-urilor în procesul de translație și îmbinare ARN	(Faucher-Giguère et al., 2022; Wang et al., 2022)
SNORA78	C/D "box" țintește ARNr 28S	Prelucrarea și maturarea unității ribozomale mari	(Braicu et al., 2019; Gao et al., 2015)
SNORA21	"box" H/ACA ghidează pseudouridilarea ARNr	Implicat în biogeneza ribozomilor și mașini de ribozomi	(Braicu et al., 2019; Gao et al., 2015; Yoshida et al., 2017)
SNORA22	"box" H/ACA ghidează pseudouridilarea în ARNr	Modificarea și maturarea ARN-urilor ribozomale și a altor ARN-uri non-codificatoare	(Henry et al., 2022; Lai, Wang, Lai, Peng, & Luo, 2022)
SNORD12	C/D "box" vizează ARNr 28S pentru 2'-O-metilare.	Asamblarea corectă și funcționarea unității ribozomale mari.	(Askarian-Amiri et al., 2011; Lio et al., 2022)

6.3. MicroARN (miARN)

Acestea sunt molecule mici de ARN de aproximativ 20-22 nucleotide în

lungime. Acestea sunt implicate în reglarea genelor post-transcripționale prin legarea la moleculele de ARN mesager (ARNm) și inhibarea translației lor sau promovarea degradării. miARN joacă roluri critice în numeroase procese biologice, inclusiv dezvoltarea, diferențierea celulară și boala. Transcrierea omniprezentă se referă la transcrierea regiunilor genomului non-codificatoare identificate anterior ca fiind fără rol funcțional. Odată numite "ADN rezidual" datorită structurii lor proteice non-codificatoare, aceste structuri sunt studiate extensiv pentru direcționarea lor care codifică rolul genei și utilizarea lor potențială în diagnostic sau ținte terapeutice pentru mai multe boli precum cancerul, bolile autoimune, bolile cardiovasculare și cele neurodegenerative. Când are loc transcripția omniprezentă, aceasta include transcrierea genelor care codifică proteinele și a regiunilor non-codificatoare, cum ar fi regiunile intergenice și ARN-urile lungi non-codificatoare (lncARN). Mai mulți miARN sunt derivați din aceste regiuni non-codificatoare, adăugând un alt strat de complexitate rețelei de reglare a genelor.

Unele dintre microARN-urile derivate din transcrierea omniprezentă sunt:

miR-21 – este unul dintre cele mai studiate microARN-uri, în special în cancer, unde este supraexprimat în majoritatea tipurilor și subtipurilor de cancer. Nu este foarte specifică pentru o anumită malignitate, dar a fost găsită supraexprimată în multe dintre ele. De asemenea, a fost determinat în diferite stadii de evoluție a cancerului de la stadii incipiente la epiteliu la mezenchimal și instalarea metastazelor (Berindan-Neagoe, Monroig Pdel, Pasculli, & Călin, 2014; Jenike & Halushka, 2021; Pop-Bica et al., 2020).

miR-155 Mir-155 este implicat în reglarea sistemului imunitar și a inflamației. Acesta a fost implicat în diferite boli legate de imunitate și poate modula activitatea celulelor imune. Este, de asemenea, implicat în mai multe malignități. Un proces de back-splicing 5-5p este generat din același precursor miARN. miR-155-5p este implicat în răspunsurile imune și procesele inflamatorii. S-a demonstrat că terapia anti-miR-155 poate inversa chimiorezistența *in vivo* și că anti-miR-155-DOPC nu este toxic *in vivo*, ceea ce duce la posibilitatea aplicării terapiei anti-miR-155 la diferite tipuri de cancer în studiile clinice pentru a depăși mecanismele de rezistență adoptate de cancer (Van Roosbroeck et al., 2017).

Familia Let-7. Familia miARN let-7 este conservată evolutiv și joacă un rol crucial în dezvoltarea și diferențierea celulară. Este adesea dereglată în cancer și a fost legată de reglarea (H. Chen et al., 2022; Gaeta, Le, Lin, Xie, & Lowry, 2017).

Clusterul miR-17-92. clusterul miR-17-92 este un cluster miARN policistronic care include mai mulți miARN (miR-17, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1 și miR-92a-1). Acesta joacă un rol în proliferarea celulelor și apoptoza și este adesea dereglat în cancer (Lee, Han, Kwon, & Lee, 2016; Mogilyansky & Rigoutsos, 2013).

miR-34. miR-34a este un microARN supresor tumoral activat de gena supresoare tumorală p53. Familia miR-34 include miR-34a, miR-34b și miR-34c. Acesta joacă un rol în controlul ciclului celular și apoptoza și este adesea dereglat în celulele canceroase (Doridot et al., 2014; Gregorova, Vychytilova-Faltejskova, & Sevcikova, 2021).

Familia miR-200, inclusiv miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-141 și miR-429, joacă un rol crucial în reglarea tranziției epitelial-mezenchimale (EMT), un proces implicat în metastazarea cancerului și remodelarea țesuturilor (Lim et al., 2013; L. Zhang et al., 2013).

miR-122 este un microARN specific ficatului care joacă un rol semnificativ în metabolismul lipidic hepatic și replicarea virusului hepatitei C (VHC) (Y. Li et al., 2018; Song et al., 2013).

miR-9 este implicat în neurogeneză și dezvoltare neuronală. Reglează expresia genelor implicate în diferențierea și funcția neuronală (Chien et al., 2020; Fiaschetti et al., 2014).

miR-375 este abundent în celulele insulelor pancreatice și reglează secreția de insulină și homeostazia glucozei (Tatekawa et al., 2017; L. H. Yin et al., 2015).

miR-146a este implicat în reglarea răspunsului imun și a inflamației. Acesta vizează căile de semnalizare asociate cu activarea imună (Casali et al., 2021; Iori, Aronica, & Vezzani, 2017).

Familia miR-29 include mai mulți membri implicați în multe boli cum ar fi fibroza tisulară, cancerul și neurodegenerative. Acestea au fost studiate ca vizând genele asociate cu matricea extracelulară (Amodio et al., 2015; Jung et al., 2020; Swahari et al., 2021).

miR-221 și miR-222. Aceste miR-uri cooperează și sunt de obicei exprimate în diferite tipuri de cancer. Ambele miR-uri pot fi găsite în mai multe etape în progresia cancerului, în special în procesul metastatic, manifestându-se de la stadiile incipiente ale progresiei maligne până la stadiile avansate (Kim et al., 2023; Quintavalle et al., 2013).

6.4. Alte ARN-uri non-codificatoare

6.4.1. ARN-uri asociate locului de începere a transcrierii (TSSa-ARN):

Un număr de ncARN pot fi, de asemenea, clasificate în funcție de locul din care provin, cum ar fi ARN-urile amplificatoare (ARN derivate din potențiatori) și ARN-urile asociate site-ului de începere a transcripției (TSSa-ARN) (Y. Yin & Shen, 2023). Aceste molecule de ARN provin din apropierea locurilor de începere a transcripției genelor care codifică proteinele. Acestea au fost implicate în reglarea expresiei genelor și

recrutarea factorilor de transcripție și a complexelor de modificare a cromatinei (Zaramela, Vêncio, ten-Caten, Baliga, & Koide, 2014). ARN-urile TSSa flanchează atât direcțiile senzoriale, cât și cele antisens ale promotorilor activi în ceea ce privește transcrierile din aval codificate de genele care codifică proteinele. Ca urmare a abundenței structurilor genetice care se cuibăresc și se suprapun în transcriptomurile mamiferelor, transcrierile de codificare, precum și transcrierile non-codificatoare, apar din aceste structuri. Mai mult, elementele reglatoare ARN responsabile pentru controlul expresiei genelor sunt adesea distribuite în interiorul sau dincolo de alte gene în ambele direcții. S-ar părea că activitatea promotorului divergent omniprezent sugerează că genele transcrise nu au limite definite între capetele lor 5' și 3' (Faghi & Wahlestedt, 2009).

6.4.2. ARN-uri amplificatoare (eARN)

ARN-urile amplificatoare (eARN) sunt transcrieri derivate din regiuni amplificatoare, secvențe ADN care reglează expresia genelor. Au fost propuse eARN pentru a activa și menține interacțiunile potențiator-promotor și pentru a regla expresia genelor țintă (Sartorelli & Lauberth, 2020). Acum este cunoscut faptul că eARN sunt utile pentru profilarea potențiatorilor activi. Cu toate acestea, există încă un decalaj cheie în înțelegerea noastră dacă transcrierea potențiatorului, eARN sau ambele sunt importante pentru determinarea funcției de îmbunătățire. Ca dovadă pentru actul transcripției amplificatorului, un studiu seminal a demonstrat că transcrierea amplificatorului facilitează menținerea unei stări deschise de cromatină, permițând TF și cofactori să fie ușor accesați, chiar și în absența TF (Rahnamoun, Orozco & Lauberth, 2020). Frecvența la care sunt asamblate transcrierile eARN este comparabilă cu cea la care sunt asamblate transcrierile ARNm. Expresia eARN este asociată cu un semn histonic ridicat de H3K27ac și un nivel scăzut de H3K27me3. Deși eARN reprezintă doar o mică parte din ARNnc, funcțiile lor sunt semnificative. eARN nu numai că promovează formarea buclelor potențiator-promotor, dar pot, de asemenea, regla activarea transcripției prin îmbunătățirea activității amplificatorului și creșterea formării buclei amplificatorului (Y. Shen et al., 2023).

6.4.3. ARN circulare (circARN)

ARN-urile circulare (circARN) sunt un tip de ARN cu bucle continue aranjate într-un model circular uniform care prezintă rezistență structurală ridicată și specificitate tisulară, sugerând că pot funcționa ca biomarkeri. Cercetătorii au descoperit că circARN-urile joacă un rol important în reglarea căilor oncogene la nivel transcripțional și post-transcripțional prin reglarea expresiei genelor (Drula et al.,

2020). ARN-urile circulare sunt molecule de ARN închise covalent care formează bucle, lipsite de terminații de 5' și cozi de poliadenilare de 3'. Acestea sunt generate printr-un proces de back-splicing, în care un site donator de îmbinare din aval este conectat la un site acceptor de îmbinare din amonte. circARN sunt abundente și stabile în celule și au fost implicate în diferite procese celulare, inclusiv reglarea genelor, miARN "sponge" și legarea de proteine (Liu et al., 2022). Studiul lui Zhang a demonstrat că modificarea mediată de m6A metiltransferază 3 (METTL3) mediată de m6A este un factor care contribuie la agresivitatea HCC prin modularea unei axe între circ_KIAA1429 și miR-133a-3p / HMGA2. În cazul țesuturilor și celulelor HCC, una dintre principalele constatări a fost că circ_KIAA1429 a fost anormal de supraexprimată. METTL3 ar putea regla pozitiv expresia circ_KIAA1429 în celulele HCC (C. P. Zhang & Huang, 2023).

6.4.4. Traducere non-ATG asociată în mod repetat (traducere RAN)

Acest fenomen implică traducerea secvențelor repetitive, cum ar fi microsateliții și secvențele repetate extinse, fără un codon ATG de inițiere. Translația RAN poate produce proteine toxice și a fost asociată cu mai multe boli neurodegenerative, inclusiv boala Huntington și scleroza laterală amiotrofică (SLA) (Fujino, Mori & Nagai, 2023). Cercetările recente indică faptul că are loc o translație non-ATG (RAN)² asociată repetat, iar mutațiile repetate de expansiune se transcriu frecvent bidirecțional. Cu alte cuvinte, proteinele mutante pot fi generate atât din transcrierile senzoriale, cât și din cele antisens ale tuturor celor trei cadre de citire atunci când apare o singură mutație de expansiune repetată atât în transcrierile sensurilor, cât și în cele antisens. Spre deosebire de alte proteine, proteinele RAN nu sunt inițiate de codonul canonic AUG ceea ce ridică posibilitatea unor întrebări mecaniciste cu privire la modul în care sunt inițiate la nivel genetic având în vedere prevalența repetărilor în genomul uman (Cleary, Pattamatta & Ranum, 2018).

6.4.5. Transcrieri ale promotorului în amonte (PROMPTs):

Acestea sunt transcrieri care provin din amonte de promotorii genetici. Ele sunt adesea degradate rapid, dar au fost propuse pentru a juca roluri în reglarea genelor și activitatea promotorului. Există trei cozi de 3'-adenozină și cinci structuri capac-5' la capetele PROMPT-urilor. Cu toate acestea, spre deosebire de ARNm, PROMPT-urile sunt în mare parte nucleare și rapid transformate de exozomul ARN. S-a constatat că complexe ARN polimerază II (RNAPII) care conțin domeniile C-terminale fosforilate (CTD) serine, similare domeniilor C-terminale ale regiunilor genice asociate cu ADN-ul transcris PROMPT, ocupă regiunea transcrisă PROMPT. Fosforilarea slabă a CTD nu

este singurul motiv pentru capacitatea ineficientă de alungire a transcripției PROMPT. Când transcripția genelor este redusă, RNAPII ocupă mai des regiunea PROMPT din amonte, sugerând că acestea fac parte dintr-un compartiment transcripțional comun (Preker et al., 2011).

6.4.6. Zgomotul de transcriere

Transcrierea omniprezentă contribuie la zgomotul transcripțional, care se referă la variația stocastică sau aleatorie a nivelurilor de expresie genică. Transcrierea moleculelor de ARN non-codificatoare de-a lungul genomului se adaugă la activitatea transcripțională generală a celulelor, ducând la creșterea zgomotului în expresia genelor. Acest zgomot transcripțional poate afecta funcțiile celulare și variabilitatea fenotipică. Fenomenul de spargere transcripțională este cauzat de promotorul unei gene care fluctuează între o stare și alta pe o perioadă de timp bazată pe starea sa. Un aflux de transcriere apare dacă promotorul trece de la o stare "oprit" la o stare "pornit". Trei factori determină cât de mult ARN este produs dintr-o genă: frecvența, durata și amplitudinea exploziilor. Mecanismul de spargere transcripțională este responsabil pentru zgomotul din expresia genelor în acest caz. Acest zgomot este adesea descris ca variația expresiei genelor observată în rândul celulelor populației (Urban & Johnston, 2018). Diversitatea poate apărea în populațiile celulare care altfel sunt identice, dar sunt implicați mai mulți factori. Zgomotul transcripțional care apare în timpul procesului de transcriere este unul dintre cei mai importanți factori. Datorită stochasticității inerente a expresiei genelor, nu este clar dacă acest zgomot poate fi controlat direct. Gena homeobox *Dig1*, un regulator al căii de împerechere a drojdiei, a fost demonstrată pentru a preveni zgomotul transcripțional în genele din aval. Acest lucru se face prin reglarea organizării spațiale a genelor țintă (Neems & Kosak, 2010).

6.4.7. Elemente funcționale necodate

Transcrierea omniprezentă a evidențiat elemente funcționale non-codificatoare în genom (Hangauer et al., 2013). Aceste elemente nu codifică proteinele, dar joacă roluri cruciale în reglarea genelor și organizarea genomului. Ele pot acționa ca potențiatori, amortizoare de zgomot, izolatori sau modulatori ai structurii cromatinei. Transcrierea omniprezentă ne-a extins înțelegerea peisajului de reglementare al genomului dincolo de genele care codifică proteinele (Palazzo & Lee, 2015).

6.4.8. Îmbinare alternativă

Transcrierea omniprezentă contribuie, de asemenea, la îmbinarea alternativă;

un proces prin care diferiți exoni dintr-o genă pot fi incluși sau excluși selectiv, generând mai multe izoforme de ARNm (Baralle & Giudice, 2017). Transcrierea omniprezentă între introni și regiuni non-codificatoare poate influența modelele alternative de îmbinare prin furnizarea de elemente suplimentare de îmbinare sau de reglementare (Deveson et al., 2018).

6.4.9. Indicii celulari și de mediu

Transcrierea omniprezentă este influențată de diferite semnale celulare și de mediu (Ruprecht et al., 2017). Modificările tipului de celule, stadiul de dezvoltare și stimulii externi pot modifica activitatea transcripțională a diferitelor regiuni ale genomului (Huang, Dai, & Zhang, 2015). Transcrierea omniprezentă poate răspunde la aceste indicii prin producerea de ARN-uri specifice non-codificatoare, contribuind la adaptarea și răspunsurile celulare. Transcrierea omniprezentă duce la producerea unui număr mare de ARN non-codificatoare. Transcrierea omniprezentă poate afecta negativ expresia și stabilitatea genomului dacă este lăsată necontrolată. Cu toate acestea, transcrierea non-codificatoare poate juca, de asemenea, roluri semnificative de reglementare, de exemplu, prin promovarea reprimării anumitor gene printr-un mecanism de interferență transcripțională. Ca răspuns la indiciile de mediu, eficiența terminării transcrierii poate afecta semnificativ capacitatea de reglementare a evenimentelor de transcriere non-codificatoare. Cu toate acestea, se știe puțin despre mecanismele care modulează încetarea transcrierii non-codificatoare (Haidara, Giannini, & Porrua, 2022). Mediul modulează procesele patologice din sistemul nervos central. Prin urmare, această observație se limitează la o corelație pură, fără a identifica ținte celulare sau moleculare specifice în sistemul nervos central. Sistemul imunitar poate răspunde la declanșatoarele de mediu bazate pe suprafețele corpului. Celulele imune activate mobil pot circula către SNC și pot provoca răspunsuri în acest compartiment, în afară de locul în care au fost activate inițial (Korn, 2019).

6.5. Metode

Progrese tehnologice. Identificarea și caracterizarea transcripției omniprezente au fost facilitate în mod semnificativ de progresele în tehnologiile de secvențiere cu randament ridicat, cum ar fi secvențierea ARN (ARN-seq) (Weinhold, Jacobsen, Schultz, Sander & Lee, 2014). Aceste tehnici permit profilarea cuprinzătoare a transcriptomului, permițând cercetătorilor să capteze și să studieze peisajul divers al moleculelor de ARN non-codificatoare (Hangauer et al., 2013).

Provocări computaționale. Analiza și interpretarea transcrierii omniprezente prezintă

provocări computaționale din cauza cantității mari de date generate de secvențierea cu randament ridicat (Eddy, 2014). Dezvoltarea instrumentelor computaționale și a algoritmilor pentru identificarea și cuantificarea cu precizie a transcrierilor ARN-urilor non-codificatoare, distingerea transcrierilor funcționale de zgomotul transcripțional și prezicerea funcțiilor lor potențiale sunt domenii active de cercetare (Guo, Liu & Chen, 2022).

Perspectivă

Studiul genomului non-codant continuă să dezvăluie mecanisme reglatoare complexe și semnificații funcționale ale regiunilor non-codificatoare. Acesta aruncă lumină asupra rolurilor lor în dezvoltare, boală, adaptare și moștenire, extinzând în continuare înțelegerea noastră asupra complexității informațiilor genetice și a expresiei genelor. Progresele tehnologice, analizele computaționale și abordările interdisciplinare vor consolida în continuare cunoștințele noastre despre semnificația funcțională a regiunilor non-codificatoare și a impactului acestora asupra sistemelor biologice.

Bibliografie

- Amodio, N., Rossi, M., Raimondi, L., Pitari, M. R., Botta, C., Tagliaferri, P., & Tassone, P. (2015). miR-29s: a family of epi-miRNAs with therapeutic implications in hematologic malignancies. *Oncotarget*, *6*(15), 12837-12861. doi:10.18632/oncotarget.3805
- Askarian-Amiri, M. E., Crawford, J., French, J. D., Smart, C. E., Smith, M. A., Clark, M. B., . . . Mattick, J. S. (2011). SNORD-host RNA Zfas1 is a regulator of mammary development and a potential marker for breast cancer. *Rna*, *17*(5), 878-891. doi:10.1261/rna.2528811
- Bao, H. J., Chen, X., Liu, X., Wu, W., Li, Q. H., Xian, J. Y., . . . Chen, S. (2022). Box C/D snoRNA SNORD89 influences the occurrence and development of endometrial cancer through 2'-O-methylation modification of Bim. *Cell Death Discov*, *8*(1), 309. doi:10.1038/s41420-022-01102-5
- Baralle, F. E., & Giudice, J. (2017). Alternative splicing as a regulator of development and tissue identity. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *18*(7), 437-451. doi:10.1038/nrm.2017.27
- Berindan-Neagoe, I., Monroig Pdel, C., Pasculli, B., & Calin, G. A. (2014). MicroRNAome genome: a treasure for cancer diagnosis and therapy. *CA Cancer J Clin*, *64*(5), 311-336. doi:10.3322/caac.21244
- Braicu, C., Zimta, A. A., Harangus, A., Iurca, I., Irimie, A., Coza, O., & Berindan-Neagoe, I. (2019). The Function of Non-Coding RNAs in Lung Cancer Tumorigenesis. *Cancers (Basel)*, *11*(5). doi:10.3390/cancers11050605

- Burnett, L. C., Hubner, G., LeDuc, C. A., Morabito, M. V., Carli, J. F. M., & Leibel, R. L. (2017). Loss of the imprinted, non-coding Snord116 gene cluster in the interval deleted in the Prader Willi syndrome results in murine neuronal and endocrine pancreatic developmental phenotypes. *Hum Mol Genet*, *26*(23), 4606-4616. doi:10.1093/hmg/ddx342
- Burnett, L. C., LeDuc, C. A., Sulsona, C. R., Paull, D., Eddiry, S., Levy, B., . . . Leibel, R. L. (2016). Induced pluripotent stem cells (iPSC) created from skin fibroblasts of patients with Prader-Willi syndrome (PWS) retain the molecular signature of PWS. *Stem Cell Res*, *17*(3), 526-530. doi:10.1016/j.scr.2016.08.008
- Candelli, T., Gros, J., & Libri, D. (2018). Pervasive transcription fine-tunes replication origin activity. *Elife*, *7*. doi:10.7554/eLife.40802
- Casali, P., Li, S., Morales, G., Daw, C. C., Chupp, D. P., Fisher, A. D., & Zan, H. (2021). Epigenetic Modulation of Class-Switch DNA Recombination to IgA by miR-146a Through Downregulation of Smad2, Smad3 and Smad4. *Front Immunol*, *12*, 761450. doi:10.3389/fimmu.2021.761450
- Chen, B., Dragomir, M. P., Yang, C., Li, Q., Horst, D., & Calin, G. A. (2022). Targeting non-coding RNAs to overcome cancer therapy resistance. *Signal Transduct Target Ther*, *7*(1), 121. doi:10.1038/s41392-022-00975-3
- Chen, H., Wang, J., Wang, H., Liang, J., Dong, J., Bai, H., & Jiang, G. (2022). Advances in the application of Let-7 microRNAs in the diagnosis, treatment and prognosis of leukemia. *Oncol Lett*, *23*(1), 1. doi:10.3892/ol.2021.13119
- Chien, Y. C., Chen, J. N., Chen, Y. H., Chou, R. H., Lee, H. C., & Yu, Y. L. (2020). Epigenetic Silencing of miR-9 Promotes Migration and Invasion by EZH2 in Glioblastoma Cells. *Cancers (Basel)*, *12*(7). doi:10.3390/cancers12071781
- Clark, M. B., Amaral, P. P., Schlesinger, F. J., Dinger, M. E., Taft, R. J., Rinn, J. L., . . . Mattick, J. S. (2011). The reality of pervasive transcription. *PLoS Biol*, *9*(7), e1000625; discussion e1001102. doi:10.1371/journal.pbio.1000625
- Cleary, J. D., Pattamatta, A., & Ranum, L. P. W. (2018). Repeat-associated non-ATG (RAN) translation. *J Biol Chem*, *293*(42), 16127-16141. doi:10.1074/jbc.R118.003237
- Clerget, G., Bourguignon-Igel, V., Marmier-Gourrier, N., Rolland, N., Wacheul, L., Manival, X., . . . Rederstorff, M. (2020). Synergistic defects in pre-rRNA processing from mutations in the U3-specific protein Rrp9 and U3 snoRNA. *Nucleic Acids Res*, *48*(7), 3848-3868. doi:10.1093/nar/gkaa066
- Cohen, E., Avrahami, D., Frid, K., Canello, T., Levy Lahad, E., Zeligson, S., . . . Gabizon, R. (2013). Snord 3A: a molecular marker and modulator of prion disease progression. *PLoS One*, *8*(1), e54433. doi:10.1371/journal.pone.0054433

- Deveson, I. W., Brunck, M. E., Blackburn, J., Tseng, E., Hon, T., Clark, T. A., . . . Mercer, T. R. (2018). Universal Alternative Splicing of Noncoding Exons. *Cell Syst*, *6*(2), 245-255.e245. doi:10.1016/j.cels.2017.12.005
- Doridot, L., Houry, D., Gaillard, H., Chelbi, S. T., Barbaux, S., & Vaiman, D. (2014). miR-34a expression, epigenetic regulation, and function in human placental diseases. *Epigenetics*, *9*(1), 142-151. doi:10.4161/epi.26196
- Drula, R., Braicu, C., Harangus, A., Nabavi, S. M., Trif, M., Slaby, O., . . . Berindan-Neagoe, I. (2020). Critical function of circular RNAs in lung cancer. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, *11*(5), e1592. doi:10.1002/wrna.1592
- Eddy, S. R. (2014). Computational analysis of conserved RNA secondary structure in transcriptomes and genomes. *Annu Rev Biophys*, *43*, 433-456. doi:10.1146/annurev-biophys-051013-022950
- Faghihi, M. A., & Wahlestedt, C. (2009). Regulatory roles of natural antisense transcripts. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *10*(9), 637-643. doi:10.1038/nrm2738
- Falaleeva, M., Welden, J. R., Duncan, M. J., & Stamm, S. (2017). C/D-box snoRNAs form methylating and non-methylating ribonucleoprotein complexes: Old dogs show new tricks. *Bioessays*, *39*(6). doi:10.1002/bies.201600264
- Faucher-Giguère, L., Roy, A., Deschamps-Francoeur, G., Couture, S., Nottingham, R. M., Lambowitz, A. M., . . . Abou Elela, S. (2022). High-grade ovarian cancer associated H/ACA snoRNAs promote cancer cell proliferation and survival. *NAR Cancer*, *4*(1), zcab050. doi:10.1093/narcan/zcab050
- Fiaschetti, G., Abela, L., Nonoguchi, N., Dubuc, A. M., Remke, M., Boro, A., . . . Grotzer, M. A. (2014). Epigenetic silencing of miRNA-9 is associated with HES1 oncogenic activity and poor prognosis of medulloblastoma. *Br J Cancer*, *110*(3), 636-647. doi:10.1038/bjc.2013.764
- Fujino, Y., Mori, K., & Nagai, Y. (2023). Repeat-associated non-AUG translation in neuromuscular diseases: mechanisms and therapeutic insights. *J Biochem*, *173*(4), 273-281. doi:10.1093/jb/mvad012
- Gaeta, X., Le, L., Lin, Y., Xie, Y., & Lowry, W. E. (2017). Defining Transcriptional Regulatory Mechanisms for Primary let-7 miRNAs. *PLoS One*, *12*(1), e0169237. doi:10.1371/journal.pone.0169237
- Gao, L., Ma, J., Mannoor, K., Guarnera, M. A., Shetty, A., Zhan, M., . . . Jiang, F. (2015). Genome-wide small nucleolar RNA expression analysis of lung cancer by next-generation deep sequencing. *Int J Cancer*, *136*(6), E623-629. doi:10.1002/ijc.29169
- Ghaffari, S. H., Bashash, D., Dizaji, M. Z., Ghavamzadeh, A., & Alimoghaddam, K. (2012). Alteration in miRNA gene expression pattern in acute promyelocytic leukemia

- cell induced by arsenic trioxide: a possible mechanism to explain arsenic multi-target action. *Tumour Biol*, 33(1), 157-172. doi:10.1007/s13277-011-0259-1
- Gregorova, J., Vychytilova-Faltejskova, P., & Sevcikova, S. (2021). Epigenetic Regulation of MicroRNA Clusters and Families during Tumor Development. *Cancers (Basel)*, 13(6). doi:10.3390/cancers13061333
- Guo, Z., Liu, X., & Chen, M. (2022). Defining pervasive transcription units using chromatin RNA-sequencing data. *STAR Protoc*, 3(2), 101442. doi:10.1016/j.xpro.2022.101442
- Haidara, N., Giannini, M., & Porrua, O. (2022). Modulated termination of non-coding transcription partakes in the regulation of gene expression. *Nucleic Acids Res*, 50(3), 1430-1448. doi:10.1093/nar/gkab1304
- Hangauer, M. J., Vaughn, I. W., & McManus, M. T. (2013). Pervasive transcription of the human genome produces thousands of previously unidentified long intergenic noncoding RNAs. *PLoS Genet*, 9(6), e1003569. doi:10.1371/journal.pgen.1003569
- Hebras, J., Marty, V., Personnaz, J., Mercier, P., Krogh, N., Nielsen, H., ... Cavaille, J. (2020). Reassessment of the involvement of Snord115 in the serotonin 2c receptor pathway in a genetically relevant mouse model. *Elife*, 9. doi:10.7554/eLife.60862
- Henry, B. A., Marchand, V., Schlegel, B. T., Helm, M., Motorin, Y., & Lee, N. (2022). Pseudouridylation of Epstein-Barr virus noncoding RNA EBER2 facilitates lytic replication. *Rna*, 28(11), 1542-1552. doi:10.1261/rna.079219.122
- Huang, C., Dai, J., & Zhang, X. A. (2015). Environmental physical cues determine the lineage specification of mesenchymal stem cells. *Biochim Biophys Acta*, 1850(6), 1261-1266. doi:10.1016/j.bbagen.2015.02.011
- Iori, V., Aronica, E., & Vezzani, A. (2017). Epigenetic control of epileptogenesis by miR-146a. *Oncotarget*, 8(28), 45040-45041. doi:10.18632/oncotarget.18364
- Jenike, A. E., & Halushka, M. K. (2021). miR-21: a non-specific biomarker of all maladies. *Biomark Res*, 9(1), 18. doi:10.1186/s40364-021-00272-1
- Jensen, T. H., Jacquier, A., & Libri, D. (2013). Dealing with pervasive transcription. *Mol Cell*, 52(4), 473-484. doi:10.1016/j.molcel.2013.10.032
- Jung, Y. D., Park, S. K., Kang, D., Hwang, S., Kang, M. H., Hong, S. W., ... Suh, N. (2020). Epigenetic regulation of miR-29a/miR-30c/DNMT3A axis controls SOD2 and mitochondrial oxidative stress in human mesenchymal stem cells. *Redox Biol*, 37, 101716. doi:10.1016/j.redox.2020.101716
- Kim, J. Y., Jung, E. J., Kim, J. M., Son, Y., Lee, H. S., Kwag, S. J., ... Ju, Y. T. (2023). MiR-221 and miR-222 regulate cell cycle progression and affect chemosensitivity in breast cancer by targeting ANXA3. *Exp Ther Med*, 25(3), 127. doi:10.3892/etm.2023.11826

- Korn, T. (2019). Stars Are Not in Outer Space: Astrocytes Respond to Environmental Cues. *Cell*, *176*(3), 416-418. doi:10.1016/j.cell.2018.12.025
- Lai, W., Wang, C., Lai, R., Peng, X., & Luo, J. (2022). Lycium barbarum polysaccharide modulates gut microbiota to alleviate rheumatoid arthritis in a rat model. *NPJ Sci Food*, *6*(1), 34. doi:10.1038/s41538-022-00149-z
- Lee, H., Han, S., Kwon, C. S., & Lee, D. (2016). Biogenesis and regulation of the let-7 miRNAs and their functional implications. *Protein Cell*, *7*(2), 100-113. doi:10.1007/s13238-015-0212-y
- Lemus-Diaz, N., Ferreira, R. R., Bohnsack, K. E., Gruber, J., & Bohnsack, M. T. (2020). The human box C/D snoRNA U3 is a miRNA source and miR-U3 regulates expression of sortin nexin 27. *Nucleic Acids Res*, *48*(14), 8074-8089. doi:10.1093/nar/gkaa549
- Li, J., & Liu, C. (2019). Coding or Noncoding, the Converging Concepts of RNAs. *Front Genet*, *10*, 496. doi:10.3389/fgene.2019.00496
- Li, Y., Ren, Q., Zhu, L., Li, Y., Li, J., Zhang, Y., . . . Feng, F. (2018). Involvement of methylation of MicroRNA-122, -125b and -106b in regulation of Cyclin G1, CAT-1 and STAT3 target genes in isoniazid-induced liver injury. *BMC Pharmacol Toxicol*, *19*(1), 11. doi:10.1186/s40360-018-0201-x
- Lim, Y. Y., Wright, J. A., Attema, J. L., Gregory, P. A., Bert, A. G., Smith, E., . . . Goodall, G. J. (2013). Epigenetic modulation of the miR-200 family is associated with transition to a breast cancer stem-cell-like state. *J Cell Sci*, *126*(Pt 10), 2256-2266. doi:10.1242/jcs.122275
- Lio, C. T., Kacprowski, T., Klaedtke, M., Jensen, L. R., Bouter, Y., Bayer, T. A., & Kuss, A. W. (2022). Small RNA Sequencing in the Tg4-42 Mouse Model Suggests the Involvement of snoRNAs in the Etiology of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, *87*(4), 1671-1681. doi:10.3233/jad-220110
- Liu, X., Zhang, Y., Zhou, S., Dain, L., Mei, L., & Zhu, G. (2022). Circular RNA: An emerging frontier in RNA therapeutic targets, RNA therapeutics, and mRNA vaccines. *J Control Release*, *348*, 84-94. doi:10.1016/j.jconrel.2022.05.043
- Luo, L., Zhang, J., Tang, H., Zhai, D., Huang, D., Ling, L., . . . Zheng, G. (2020). LncRNA SNORD3A specifically sensitizes breast cancer cells to 5-FU by sponging miR-185-5p to enhance UMPS expression. *Cell Death Dis*, *11*(5), 329. doi:10.1038/s41419-020-2557-2
- Lybecker, M., Bilusic, I., & Raghavan, R. (2014). Pervasive transcription: detecting functional RNAs in bacteria. *Transcription*, *5*(4), e944039. doi:10.4161/21541272.2014.944039

- Massenet, S., Bertrand, E., & Verheggen, C. (2017). Assembly and trafficking of box C/D and H/ACA snoRNPs. *RNA Biol*, *14*(6), 680-692. doi:10.1080/15476286.2016.1243646
- McMahon, M., Contreras, A., Holm, M., Uechi, T., Forester, C. M., Pang, X., . . . Ruggero, D. (2019). A single H/ACA small nucleolar RNA mediates tumor suppression downstream of oncogenic RAS. *Elife*, *8*. doi:10.7554/eLife.48847
- Mei, Y. P., Liao, J. P., Shen, J., Yu, L., Liu, B. L., Liu, L., . . . Jiang, F. (2012). Small nucleolar RNA 42 acts as an oncogene in lung tumorigenesis. *Oncogene*, *31*(22), 2794-2804. doi:10.1038/onc.2011.449
- Mogilyansky, E., & Rigoutsos, I. (2013). The miR-17/92 cluster: a comprehensive update on its genomics, genetics, functions and increasingly important and numerous roles in health and disease. *Cell Death Differ*, *20*(12), 1603-1614. doi:10.1038/cdd.2013.125
- Neems, D., & Kosak, S. T. (2010). Turning down the volume on transcriptional noise. *Nat Cell Biol*, *12*(10), 929-931. doi:10.1038/ncb1010-929
- Nikas, J. B., & Nikas, E. G. (2019). Genome-Wide DNA Methylation Model for the Diagnosis of Prostate Cancer. *ACS Omega*, *4*(12), 14895-14901. doi:10.1021/acsomega.9b01613
- Ojha, S., Malla, S., & Lyons, S. M. (2020). snoRNPs: Functions in Ribosome Biogenesis. *Biomolecules*, *10*(5). doi:10.3390/biom10050783
- Palazzo, A. F., & Lee, E. S. (2015). Non-coding RNA: what is functional and what is junk? *Front Genet*, *6*, 2. doi:10.3389/fgene.2015.00002
- Pop-Bica, C., Pintea, S., Magdo, L., Cojocneanu, R., Gulei, D., Ferracin, M., & Berindan-Neagoe, I. (2020). The Clinical Utility of miR-21 and let-7 in Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC). A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*, *10*, 516850. doi:10.3389/fonc.2020.516850
- Preker, P., Almvig, K., Christensen, M. S., Valen, E., Mapendano, C. K., Sandelin, A., & Jensen, T. H. (2011). PROMoter uPstream Transcripts share characteristics with mRNAs and are produced upstream of all three major types of mammalian promoters. *Nucleic Acids Res*, *39*(16), 7179-7193. doi:10.1093/nar/gkr370
- Quintavalle, C., Mangani, D., Roscigno, G., Romano, G., Diaz-Lagares, A., Iaconi, M., . . . Condorelli, G. (2013). MiR-221/222 target the DNA methyltransferase MGMT in glioma cells. *PLoS One*, *8*(9), e74466. doi:10.1371/journal.pone.0074466
- Rabany, O., & Nachmani, D. (2023). Small Nucleolar (Sno)RNA: Therapy Lays in Translation. *Noncoding RNA*, *9*(3). doi:10.3390/ncrna9030035
- Rahnamoun, H., Orozco, P., & Lauberth, S. M. (2020). The role of enhancer RNAs in epigenetic regulation of gene expression. *Transcription*, *11*(1), 19-25. doi:10.1080/21541264.2019.1698934

- Ross, C. J., & Ulitsky, I. (2022). Discovering functional motifs in long noncoding RNAs. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, *13*(4), e1708. doi:10.1002/wrna.1708
- Ruprecht, V., Monzo, P., Ravasio, A., Yue, Z., Makhija, E., Strale, P. O., . . . Viasnoff, V. (2017). How cells respond to environmental cues - insights from bio-functionalized substrates. *J Cell Sci*, *130*(1), 51-61. doi:10.1242/jcs.196162
- Sartorelli, V., & Lauberth, S. M. (2020). Enhancer RNAs are an important regulatory layer of the epigenome. *Nat Struct Mol Biol*, *27*(6), 521-528. doi:10.1038/s41594-020-0446-0
- Schulten, H. J., Bangash, M., Karim, S., Dallol, A., Hussein, D., Merdad, A., . . . Al-Qahtani, M. H. (2017). Comprehensive molecular biomarker identification in breast cancer brain metastases. *J Transl Med*, *15*(1), 269. doi:10.1186/s12967-017-1370-x
- Shen, L., Lin, C., Lu, W., He, J., Wang, Q., Huang, Y., . . . Wang, Z. (2022). Involvement of the oncogenic small nucleolar RNA SNORA24 in regulation of p53 stability in colorectal cancer. *Cell Biol Toxicol*. doi:10.1007/s10565-022-09765-7
- Shen, Y., Huang, Z., Yang, R., Chen, Y., Wang, Q., & Gao, L. (2023). Insights into Enhancer RNAs: Biogenesis and Emerging Role in Brain Diseases. *Neuroscientist*, *29*(2), 166-176. doi:10.1177/10738584211046889
- Song, K., Han, C., Zhang, J., Lu, D., Dash, S., Feitelson, M., . . . Wu, T. (2013). Epigenetic regulation of MicroRNA-122 by peroxisome proliferator activated receptor-gamma and hepatitis b virus X protein in hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology*, *58*(5), 1681-1692. doi:10.1002/hep.26514
- Srinivas, T., Mathias, C., Oliveira-Mateos, C., & Guil, S. (2023). Roles of lncRNAs in brain development and pathogenesis: Emerging therapeutic opportunities. *Mol Ther*, *31*(6), 1550-1561. doi:10.1016/j.ymthe.2023.02.008
- Swahari, V., Nakamura, A., Hollville, E., Stroud, H., Simon, J. M., Ptacek, T. S., . . . Deshmukh, M. (2021). MicroRNA-29 is an essential regulator of brain maturation through regulation of CH methylation. *Cell Rep*, *35*(1), 108946. doi:10.1016/j.celrep.2021.108946
- Tatekawa, S., Chinen, Y., Ri, M., Narita, T., Shimura, Y., Matsumura-Kimoto, Y., . . . Kuroda, J. (2017). Epigenetic repression of miR-375 is the dominant mechanism for constitutive activation of the PDPK1/RPS6KA3 signalling axis in multiple myeloma. *Br J Haematol*, *178*(4), 534-546. doi:10.1111/bjh.14707
- Urban, E. A., & Johnston, R. J., Jr. (2018). Buffering and Amplifying Transcriptional Noise During Cell Fate Specification. *Front Genet*, *9*, 591. doi:10.3389/fgene.2018.00591
- Van Roosbroeck, K., Fanini, F., Setoyama, T., Ivan, C., Rodriguez-Aguayo, C., Fuentes-Mattei, E., . . . Calin, G. A. (2017). Combining Anti-Mir-155 with Chemotherapy for

- the Treatment of Lung Cancers. *Clin Cancer Res*, 23(11), 2891-2904. doi:10.1158/1078-0432.Ccr-16-1025
- Wang, K., Song, X., Wang, S., Li, X., Zhang, Z., Xie, L., & Song, X. (2022). Plasma SNORD42B and SNORD111 as potential biomarkers for early diagnosis of non-small cell lung cancer. *J Clin Lab Anal*, 36(11), e24740. doi:10.1002/jcla.24740
- Weinhold, N., Jacobsen, A., Schultz, N., Sander, C., & Lee, W. (2014). Genome-wide analysis of noncoding regulatory mutations in cancer. *Nat Genet*, 46(11), 1160-1165. doi:10.1038/ng.3101
- Xu, B., Ye, M. H., Lv, S. G., Wang, Q. X., Wu, M. J., Xiao, B., . . . Zhu, X. G. (2017). SNORD47, a box C/D snoRNA, suppresses tumorigenesis in glioblastoma. *Oncotarget*, 8(27), 43953-43966. doi:10.18632/oncotarget.16693
- Yin, L. H., Zheng, X. Q., Li, H. Y., Bi, L. X., Shi, Y. F., Ye, A. F., . . . Gao, S. M. (2015). Epigenetic deregulated miR-375 contributes to the constitutive activation of JAK2/STAT signaling in myeloproliferative neoplasm. *Leuk Res*, 39(4), 471-478. doi:10.1016/j.leukres.2015.01.009
- Yin, Y., & Shen, X. (2023). Noncoding RNA-chromatin association: Functions and mechanisms. *Fundamental Research*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fmre.2023.03.006>
- Yoshida, K., Toden, S., Weng, W., Shigeyasu, K., Miyoshi, J., Turner, J., . . . Goel, A. (2017). SNORA21 - An Oncogenic Small Nucleolar RNA, with a Prognostic Biomarker Potential in Human Colorectal Cancer. *EBioMedicine*, 22, 68-77. doi:10.1016/j.ebiom.2017.07.009
- Zaramela, L. S., Vêncio, R. Z., ten-Caten, F., Baliga, N. S., & Koide, T. (2014). Transcription start site associated RNAs (TSSaRNAs) are ubiquitous in all domains of life. *PLoS One*, 9(9), e107680. doi:10.1371/journal.pone.0107680
- Zhang, C. P., & Huang, X. Y. (2023). Circular RNA circ_KIAA1429 accelerates hepatocellular carcinoma progression via the miR-133a-3p/high mobility group AT-hook 2 (HMGA2) axis in an m6A-dependent manner. *Hum Cell*. doi:10.1007/s13577-023-00933-3
- Zhang, L., Yang, F., Yuan, J. H., Yuan, S. X., Zhou, W. P., Huo, X. S., . . . Sun, S. H. (2013). Epigenetic activation of the MiR-200 family contributes to H19-mediated metastasis suppression in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*, 34(3), 577-586. doi:10.1093/carcin/bgs381
- Zhang, R., Zeng, Y., & Deng, J. L. (2022). Long non-coding RNA H19: a potential biomarker and therapeutic target in human malignant tumors. *Clin Exp Med*. doi:10.1007/s10238-022-00947-5

Zhu, W., Niu, J., He, M., Zhang, L., Lv, X., Liu, F., . . . Wei, M. (2019). SNORD89 promotes stemness phenotype of ovarian cancer cells by regulating Notch1-c-Myc pathway. *J Transl Med*, *17*(1), 259. doi:10.1186/s12967-019-2005-1

7. ARN-uri lungi non-codificatoare (lncARN)

Alexandru Tirpe^{1,2}

¹Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, România

²Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Str. Victor Babeș nr. 8, 400012 Cluj-Napoca, România

Introducere

Genomul uman este în mare parte procesat în entități-transcript. ARN-urile lungi non-codificatoare au fost descrise convențional ca având peste 200 de nucleotide, fără capacități funcționale de codificare a proteinelor (Mattick et al., 2023). La începutul anilor 1980, deși inițial identificată eronat ca și ARNm, prima genă non-codificatoare fusese descoperită – gena *H19* (Pachnis, Belayew, & Tilghman, 1984), printr-o abordare *a posteriori*: studierea unei biblioteci de cADN a unui model murin de ficat fetal pentru clone care conțineau secvențe de ARNm care scad după naștere. La momentul redactării acestui capitol, nu există un consens clar cu privire la numărul de gene lncARN, deoarece există mai multe adnotări diferite (Uszczynska-Ratajczak, Lagarde, Frankish, Guigo, & Johnson, 2018). De exemplu, statisticile GENCODE v43 (11.03.2023) furnizează un număr de 19 928 de gene lncARN umane, în timp ce baza de date NONCODE v6.0 furnizează un număr de 96 411 de gene lncARN umane.

În ultimii ani, un număr ridicat de studii au relevat implicarea lncARN în patologia umană. Pentru scopuri de centralizare a datelor, capitolul curent va studia doar cancerul, ca patologie centrală. Întrucât cancerul se referă la creșterea celulară necontrolată, devine evident faptul că presiunea de selecție Darwiniană asupra celulelor maligne favorizează acele celule care au cel mai mare avantaj replicativ obținut mutațional. Această selecție evolutivă este dependentă atât de mecanisme genetice, cât și de mecanisme epigenetice (Shen & Laird, 2013).

În boala neoplazică, lncARN intervin în diverse mecanisme reglatorii epigenetice cu localizare nucleară (Gao et al., 2020), incluzând metilarea ADN-ului, modificările de histone/cromatinice – prin acțiunea asupra statusului epigenetic a numeroase gene care codează proteine funcționale (Morlando & Fatica, 2018). Versatilitatea funcțională a lncARN-urilor le permite să *ghideze* complexe modificatoare de cromatină la locusuri genomice exacte pentru exercitarea acțiunii (K. Zhang et al., 2014). Mai mult, în cadrul nucleului, lncARN-urile care operează în mod *cis* alterează transcrierea genică la nivel nuclear, în timp ce lncARN-urile care operează în mod *trans* reglează expresia genică în cromozomi diferiți sau în locusuri aflate la

distanță mai mare (Morlando & Fatica, 2018). Modularea epigenetică post-transcripțională de către lncARN se referă, în general, la legarea lncARN de un grup de proteine de legare a ARN-ului (RBP). Această acțiune duce la modificări post-transcripționale – în stabilitatea mARN, în fenomenul de *splicing*, în stabilitatea proteinelor și chiar în localizarea subcelulară (R. Z. He, Luo, & Mo, 2019).

7.1. Informații actualizate

7.1.1. Interacțiunea dintre lncARN și metilarea ADN-ului

Metilarea ADN-ului este o caracteristică epigenetică ce controlează, printre altele, expresia genică și stabilitatea genomului. Metilarea ADN-ului este realizată de ADN-metiltransferaze (DNMT), care sunt reglate îndeaproape de mai multe entități, inclusiv de lncARN-uri (Huang, Li, Yu, Xiao, & Wang, 2022). În mod natural, alterările apărute în homeostazia metilării ADN-ului pot duce la dezvoltarea cancerului (Nishiyama & Nakanishi, 2021). Un astfel de mecanism se referă la fenomenul de hipermetilare a mai multor entități, inclusiv a genelor supresoare tumorale, observat în celulele maligne, cu inhibiția consecutivă a expresiei genice a acestor gene supresoare tumorale și urmată de proliferare necontrolată (Jones, 2012).

Legat de interacțiunea dintre lncARN și DNMT, există multiple mecanisme care necesită să fie discutate – printre altele, recrutarea DNMT, recrutarea enzimelor TET, sechestrarea, interrelația SAM-SAH și reglarea expresiei DNMT/TET (Huang et al., 2022). Alte mecanisme pot fi, de asemenea, implicate.

Într-un studiu realizat de Wang et al. (Wang et al., 2023) care a examinat 61 de perechi de probe de țesuturi de carcinom scuamos de laringe (LSCC), asociat cu țesuturile non-tumorale corespunzătoare, autorii au relevat că expresia MAGI2-AS3 în țesuturile LSCC a fost mai scăzută decât expresia în țesuturile non-tumorale adiacente. S-au obținut corelații pozitive statistic semnificative între expresia MAGI2-AS3 și metastazarea la nivelul ganglionilor limfatici cervicali ($p = 0.047$), precum și cu stadiul TNM ($p = 0.022$). În studiul Wang, supraexpresia lncARN-ului MAGI2-AS3 a inhibat proliferarea, migrarea și invazia celulelor LSCC. Întrucât localizarea lncARN-ului la nivel celular este esențială, Wang et al. au remarcat că MAGI2-AS3 era prezent atât în citoplasmă, cât și în nucleu, dar cu un nivel mai ridicat în nucleul celulelor TU177 și AMC-HN-8. În calitate de reglator, MAGI2-AS3 este capabil să suprimă fenotipul mezenchimal prin reglarea proteinelor N-caderină și vimentină. În consecință, hipermetilarea promotorului MAGI2-AS3 a dus la un fenomen de *downregulation* a acestui lncARN atât în țesuturile LSCC, cât și în liniile celulare TU177 și AMC-HN-8. Wang et al. au arătat, astfel, faptul că MAGI2-AS3 inhibă proliferarea, migrarea și

invazia celulelor LSCC printr-un mecanism dependent de proteina de legare a ARN-ului SPT6, prin legarea la nivelul celulelor LSCC. Mai mult, în același studiu, autorii au arătat că supraexpresia MAGI2-AS3 inhibă creșterea tumorilor xenogrefe *in vivo*. Wang et al. au concluzionat că MAGI2-AS3 ar putea fi un lncARN critic pentru progresia LSCC și ar putea funcționa ca un nou biomarker pentru diagnosticul precoce al LSCC (Wang et al., 2023).

Având în vedere că s-au observat niveluri crescute de metilare a N6-deoxiadenozinei (6mA) în glioblastom, carcinom gastric și carcinom hepatic (Chen et al., 2022), Hsu et al. au cercetat interacțiunea dintre 6mA și METTL4 în context hipoxic. Autorii au descoperit că METTL4 este un mediator cheie în relație cu 6mA, iar supraexpresia sa activează tranziția epitelial-mezenchimală (EMT) (Hsu et al., 2022). Mai mult, Hsu et al. au descoperit că METTL4 este un factor esențial în tranziția epitelial-mezenchimală indusă de hipoxie (Hsu et al., 2022). Datele statistice de supraviețuire Kaplan-Meier din acest studiu au indicat un prognostic mai nefavorabil pentru pacienții cu carcinom urotelial de tract urinar superior (UTUC) care prezintă niveluri ridicate în co-expresie a METTL4 și 6mA, în comparație cu pacienții cu UTUC care prezintă niveluri METTL4/6mA scăzute, sugerând valoarea prognostică a acestei asocieri. LncARN RP11-390F4.3 activează aproximativ aceiași reglatori EMT ca și METTL4, iar regiunea sa promotoare conține 6mA, întrucât se localizează la nivel nuclear. Din punctul de vedere al mecanismului, RP11-390F4.3 activează reglatorii EMT prin interacțiunea cu cromatina. Expresia ridicată a RP11-390F4.3 la pacienții cu carcinoame de sferă ORL este un predictor negativ al supraviețuirii (Hsu et al., 2022). Același studiu a concluzionat faptul că situsurile de 6mA joacă un rol cheie în activarea indusă de hipoxie a RP11-390F4.3, care ulterior activează EMT (Hsu et al., 2022).

Într-un studiu recent realizat de către He et al., TFAP2A a promovat transcripția lncARN TPRG1-AS1, care la rândul său a recrutat DNMT la promotorul CRTAC1 și a stimulat metilarea ADN-ului la nivelul genei CRTAC1, blocând astfel transcripția CRTAC1 și promovând glicoliza și angiogeneza în celulele de carcinom urotelial de vezică urinară (BLCA) (J. He et al., 2023).

Într-un studiu din 2022 realizat de Zhou et al., s-a constatat faptul că expresia PROS1 în gliomele *low grade* (LGG) a fost supraexprimată și asociată cu expresia DNMT, a genelor de modificare a ARN-ului, a genelor sistemului de reparare a erorilor de replicare a ADN-ului (MMR), variațiile numărului de copii, precum și frecvența variațiilor de nucleotide. Datele din acest studiu subliniază faptul că expresia PROS1 ar putea influența prognosticul și tratamentul acestui tip de malignitate prin influențarea caracteristicilor stem ale celulelor canceroase și a heterogenității genomice, cu o asociere statistic semnificativă între expresia PROS1 și încărcătura mutațională a

tumorii ($p = 0.00094$), pierderea heterozigozității ($p = 3.31e-7$) și caracteristicile stem bazate pe reglarea epigenetică prin metilarea ADN-ului ($p = 0.0138$). În plus, în cadrul acestui studiu, s-au cercetat din punctul de vedere al mecanismului tripletele IncARN-TF-genă. NFKB1 a avut cel mai mare coeficient de corelație cu PROS1. Dintre cele două IncARN-uri care au fost exprimate diferențiat semnificativ în LGG – RP3-525N10.2 și MIR497HG –, doar primul a fost semnificativ subexprimat. Astfel, autorii au propus un mecanism în care RP3-525N10.2 ar putea acționa ca un supresor tumoral prin complexarea NFKB1 sau ghidarea NFKB1 și prevenirea acțiunii sale asupra PROS1 în LGG, fiind capabil să afecteze prognosticul prin axa RP3-525N10.2-NFKB1-PROS1 (Zhou, Xiao, & Jiang, 2022).

Wu et al. au demonstrat că în țesuturile și celulele de carcinom gastric, LINC00467 a fost supraexprimat, în timp ce Reprimo a avut o expresie genică mai redusă. Din punctul de vedere al mecanismului, DNMT1 a fost recrutat în celulele de carcinom gastric într-o modalitate dependentă de LINC00467. Mai mult, s-a constatat că metilarea promotorului genei Reprimo a fost stimulată de către LINC00467, inhibând astfel expresia Reprimo. În cadrul experimentelor *in vivo*, un *knockdown* la nivelul LINC00467 a scăzut atât tumorigeneza, cât și metastazarea (Wu & Du, 2022).

O abordare integrativă și non-exhaustivă a altor IncARN-uri implicate în modularea epigenetică a cancerului poate fi consultată în cadrul Tabelului 1.

Tabelul 1. IncARN-uri implicate în metilarea ADN în cancer – studii recente

IncARN	Malignitate	Mecanism	Ref
Small nuclear host gene 3 (SNHG3)	Carcinom gastric	SNHG este implicat în metilarea SEPT9 prin axa miR-448/DNMT1, stimulând astfel proliferarea carcinomului și metastazarea.	(W. Li et al., 2022)
RAMP2-AS1	Carcinom mamar	RAMP2-AS1 recrutează DNMT1 și DNMT3B la promotorul genei CXCL11 și inhibă fenotipul malign al carcinomului mamar.	(Li, Gan, & Peng, 2022)
Urothelialcancer-Associated 1 (UCA1)	Glioblastom	Axa UCA1/miR-182-5p/MGMT este implicată în răspunsul celulelor de gliom la temozolomid (TMZ). Eficacitatea TMZ pe apoptoza celulară, nivelul proteinei MGMT și markerii de deteriorare a ADN-ului <i>in vitro</i> /tumorigeneza <i>in vivo</i> au fost crescute cu <i>knockdown</i> -ul UCA1.	(Cheng et al., 2022)

SNHG5	Carcinom hepatocelular	SNHG5 a redus expresia DNMT3a și, astfel, a redus nivelul de metilare al SPATS2. Astfel, nivelurile crescute de SPATS2 pot stimula proliferarea și migrarea celulelor HepG2.	(Yan, Huang, Huang, Wang, & Liu, 2022)
LINC01273	Carcinom hepatocelular	LINC01273 a facilitat acțiunea miR-600 pe METTL3 în celulele rezistente la sorafenib, astfel reducând nivelul acestuia. În același timp, LINC01273 conferă rezistență la sorafenib în HCC prin reglarea indirectă a METTL3.	(Kong, Sun, Zhang, Zhang, & Li, 2022)
UCA1	Carcinom mamar	Inhibiția UCA1 a suprimat proliferarea și invazia celulelor de carcinom mamar și a promovat apoptoza prin reducerea metilării METTL14 cu creșterea consecutivă a expresiei METTL14.	(C. Zhao, Ling, Xia, Yan, & Guan, 2022)
SNHG22	Carcinom hepatocelular	SNHG22 a recrutat DNMT1 la promoterul genei miR-16-5p, conducând la metilarea promoterului genei miR-16-5p printr-un mecanism dependent de EZH2, astfel stimulând proliferarea, migrarea, invazia și angiogeneza.	(Y. Zhang, Lu, & Cui, 2021)
HOTAIRM1	Glioblastom	<i>Knockdown</i> -ul HOTAIRM1 a scăzut nivelul de expresie al transglutaminazei 2 (TGM2) și a indus funcționarea defectuoasă mitocondrială, cu niveluri crescute ale speciilor reactive de oxigen.	(Ahmadov et al., 2021)
LCAT3	Carcinom pulmonar	LCAT3 a recrutat FUBP1 la secvența FUSE a genei MYC, activând transcripția și rezultând stimularea proliferării, invaziei și metastazării a celulelor de carcinom pulmonar.	(Qian et al., 2021)
LINC00470	Carcinom endometrial	LINC00470 a promovat interacțiunea dintre MYC și DNMT3A și a recrutat DNMT3A în scopul metilării PTEN.	(Yi, Song, Zuo, Wang, & Miao, 2021)
Colorectal adenocarcinoma hypermethylated (CAHM)	Gliom	În celulele de gliom, CAHM este regăsit în stare hipermetilată de către DNMT1; supraexprimarea CAHM a inhibat migrarea și invazia celulelor de gliom prin calea de semnalizare SPAK/MAPK.	(Xu et al., 2022)
HCP5	Carcinom hepatocelular	Nivelul crescut de expresie al HCP5 în HCC a promovat proliferarea celulară, invazia și potențialul metastatic prin inhibarea apoptozei și stimularea EMT prin axa HCP5/miR-29b-3p/DNMT3A/AKT.	(Zhou et al., 2021)

7.1.2. Alterări ale histonelor și a cromatinei

Expresia genică poate fi alterată și de modificările histonice, iar aceste modificări pot fi legate de metilarea, acetilarea și ubiquitinarea histonelor.

Există mai multe lncARN-uri care își manifestă efectele de metilare a histonelor în cancer, spre exemplu lncARN-urile HOTAIR, HOTTIP, ANRIL (Begolli, Sideris, & Giakountis, 2019). Cele mai metilate histone sunt H3 și H4, respectiv, pe atomii de azot ai lanțului lateral ale reziduurilor de lizină și arginină (Herz, Garruss, & Shilatifard, 2013). Funcțional, metilarea histonelor prezintă diverse roluri și este asociată cu diverse statusuri de expresie genică, deoarece poate influența arhitectura cromatinică (Greer & Shi, 2012). Există multiple reziduuri de lizină predispușe la metilare, care sunt asociate cu activarea transcripțională – H3K4, H3K36, H3K79, în timp ce metilarea lizinei la H3K9, H4K20 și H3K27 sunt mai degrabă asociate cu supresia transcripțională (Z. Zhao & Shilatifard, 2019). Într-un articol de Wan et al., autorii sugerează că expresia histonelor mutante H3K27M și H3K36M conduce la o reducere globală a metilării histonelor la acele situsuri specifice de lizină și sunt găsite în gliomele pontine intrinsec difuze și, respectiv, în condroblastoame (Wan, Liu, & Chan, 2018).

Mai mult, acetilarea histonelor este un proces dinamic - deacetilarea histonelor fiind controlată de histon-deacetilaze (HDAC), care formează o conformație închisă cromatinică și alterează în consecință accesibilitatea factorilor de transcriere (Sawan & Herceg, 2010). Pe de altă parte, acetilarea histonelor este controlată de histon-acetiltransferaze (HAT); acetilarea promovează transcrierea activă prin stimularea transcrierii (Z. Zhao & Shilatifard, 2019).

Ubiquitinarea histonelor este de asemenea un proces dinamic și implică activarea sau inhibiția transcrierii (Y. Zhang, 2003). Tabelul 2 prezintă o privire generală simplificată a mai multor lncARN-uri implicate în modificările histonelor/cromatinice.

Tabelul 2. lncARN-uri implicate în modularea histonelor în cancer – studii recente

lncARN	Histone implicate	Malignitate	Mecanism	Ref
MAT1	H3K4	Melanom uveal	MAT1 inhibă interacțiunea dintre MLL1-PCDH20, inhibând astfel trimetilarea H3K4 și inhibând transcripția PCDH20.	(Pan et al., 2022)
HOXB-AS4	HDAC7	Carcinom colorectal	HOXB-AS4 reglează expresia HDAC7 printr-un mecanism <i>sponge-like</i> , legând și adsorbind miR-140-5p.	(Deng et al., 2023)

CTB- 193M12.5	NSD1 H3K36me2, H3K27me3	HCC	CTB-193M12.5 a recrutat histon-metiltransferaza NSD1 la promotorul genei WNT10B și a crescut gradul de metilare al H3K36me2, scăzând în același timp trimetilarea H3K27me3 la nivelul promotorului WNT10B și activând astfel transcrierea WNT10B.	(S. Zhang, Jiang, Cao, Xiong, & Xu, 2022)
UC.145	EZH2	Carcinom gastric	UC.145, o entitate implicată în calea canonică de semnalizare Wnt, a promovat metilarea DKK1 printr-un mecanism dependent de EZH2.	(Yoon et al., 2022)
LINC00886	H3K18	Carcinom scuamos esofagian	LINC00886 ar putea recruta SIRT7 pentru a scădea nivelul de acetilare al H3K18 la nivelul promotorului genei ELF3, astfel inhibând expresia ELF3.	(Dong et al., 2022)
LINC01510	H4K20	NSCLC	Lizin-metiltransferaza 5C (KMT5C) catalizează trimetilarea H4K20; inhibiția expresiei KMT5C supraexprimă LINC01510, care promovează transcrierea MET, implicat în rezistența la inhibitorii EGFR în NSCLC.	(Pal et al., 2022)
ROR	H3K9me	Carcinom papilar tiroidian	LncARN ROR inhibă recrutarea G9a la promotorul TESC și metilarea H3K9me, astfel activând TESC; ROR promovează progresia PTC prin axa TESC/ALDH1A1/TUBB3/PTEN.	(Fan et al., 2022)
HOTAIR	H3K27	N/A	HOTAIR interacționează cu PRC2 și promovează metilarea H3K27, astfel promovând EMT.	(Jarroux et al., 2021)
ANRIL	H3K27me3	Colangiocarcinom	ANRIL leagă EZH2 și menține nivelul de H3K27me3 la nivelul promotorului supresorului tumoral ERFF1, astfel supresând expresia ERFF1 și promovând progresia colangiocarcinomului.	(Yu et al., 2020)
lncEPAT	H2A	Glioblastom	LncEPAT a blocat deubiquitinarea H2A printr-un mecanism dependent de USP16 și a suprimat expresia unor gene precum CDKN1A și CLUSTERIN.	(L. Li, A. Zhou, et al., 2022)

7.2. Metode de investigare în studiul ARN-urilor non-codificatoare

Tehnologiile emergente din domeniul cercetării moleculare au condus la identificarea unui număr tot mai mare de lncARN-uri. Cu toate acestea, multe dintre aceste ARN-uri non-codificatoare rămân cu funcție necunoscută în oncologie, ceea ce deschide o nouă zonă de cercetare. Acest subcapitol va discuta principalele metode de investigare a lncARN-urilor, de la identificarea unor noi lncARN-uri, până la caracterizarea expresiei și funcției lor.

Screening-ul lncARN. ARN-urile lungi non-codificatoare care sunt exprimate diferențiat pot fi supuse unui proces de screening folosind secvențierea *high-throughput*, cum ar fi secvențierea de nouă generație (NGS) a unui număr divers de probe provenite de la pacienți, cum ar fi celule, plasmă, ser, exozomi (Hardwick, Joglekar, Flicek, Frankish, & Tilgner, 2019). Metodele de secvențiere *high-throughput* pot detecta transcripte cu doar câteva copii existente în cadrul probei (Gao et al., 2020), iar metode precum microarray-ul și secvențierea ARN ar fi indicat să fie completate cu studii funcționale și de mecanism (Luo, 2016).

Detectarea expresiei lncARN. Expresia lncARN-ului poate fi detectată prin diverse metode - qRT-PCR, hibridizare fluorescentă in situ (FISH) /hibridizare in situ (ISH) - ambele fiind capabile să evalueze concomitent expresia genică - și tehnica Northern blot, cu o sensibilitate mai mică în comparație cu celelalte, dar cu o specificitate mai mare în comparație cu qRT-PCR (Luo, 2016). Siturile de legare ale lncARN-ului pot fi detectate prin diverse metode, cum ar fi ChIRP, CHART și RAP (Luo, 2016).

Detectarea interacțiunii lncARN-proteină poate fi realizată prin cromatografia ARN plus spectrometria de masă, ChIRP-MS și RAP-MS, ultimele două metode fiind capabile să depășească problemele tehnice legate de cromatografia ARN (Luo, 2016).

Studiile funcționale la nivel de lncARN se referă la experimente *in vitro* și *in vivo*. Experimentele *in vitro* permit supraexpresia sau supresia expresiei genice a lncARN-ului, urmate de determinări de parametri care sunt modificați de supraexpresia/supresia lncARN-ului. Există multiple posibilități de a studia pierderea de funcție a lncARN-ului - inclusiv siARN-uri și *short hairpin* ARN (shARN) care vizează gena lncARN, imitând mecanismul de ARN interferență endogen pentru a inhiba expresia genică a lncARN. Alte metode de suprimare a expresiei genice includ oligonucleotidele antisens și tehnologiile legate de CRISPR/Cas. Supraexpresia genei lncARN începe cu amplificarea extremităților cADN, urmată de construcția într-un vector care exprimă lncARN-ul (Luo, 2016). Experimentele *in vivo* pot utiliza modele murine transgenice care exprimă în cele din urmă funcția genei exogene; în prezent,

implicarea lncARN-urilor în carcinogeneză și metastazare în modelele murine transgenice necesită studii (Luo, 2016). Modelul murin knockout este un tip de studiu *in vivo* care cercetează pierderea de funcție a lncARN-ului - cu deleția întregii secvențe genice a lncARN-ului, înlocuirea genei lncARN cu o genă raportor, îndepărtarea promotorului endogen, integrarea unui semnal de oprire transcripțional la extremitatea 5' a transcriptului lncARN sau chiar o abordare bazată pe tehnologia CRISPR/Cas9. Xenogrefele tumorale se referă la manipularea *in vitro* a celulelor maligne (supraexpresia/supresia genică a lncARN), urmată de injectarea la șoareci imunodeficienți; modelele de xenogrefe tumorale au fost utilizate cu succes pentru a studia funcția lncARN-ului în creșterea și metastazarea carcinoamelor (Luo, 2016).

Până în prezent, doar 7 trialuri clinice au fost identificate ca și *Completed*, căutate prin cuvintele cheie "Cancer" și "lncARN". Toate aceste studii au investigat rolul unor lncARN ca biomarkeri pentru detectarea sau progresia carcinoamelor. Un rezumat detaliat al acestor studii este prezentat în tabelul 3. Nu au fost identificate intervenții terapeutice legate de lncARN în aceste studii.

Tabelul 3. Trialuri clinice lncARN în cancer cu status *Completed*

Trial	lncARN	Scopul trialului	NCTid	Rezultate
Serum Exosomal Long Noncoding RNAs as Potential Biomarkers for Lung Cancer Diagnosis	TBD ¹	Detectarea carcinomului pulmonar incipient prin identificarea lncARN exozomale specifice în carcinomul pulmonar incipient.	NCT03830619	Nu există rezultat publicat (09.04.2023).
Prospectively Predict the Efficacy of Precise Immunotherapy Response of Gastric Cancer Based on Circulating Exosomal lncARN-GC1 Biopsy	GC1	Monitorizarea progresiei carcinomului gastric avansat, relevarea unor biomarkeri de predicție și monitorizare pentru imunoterapia în carcinomul gastric.	NCT05334849	Nu există rezultat publicat (09.04.2023).
The Long Non Coding MALAT1 as a Potential Salivary Diagnostic Biomarker in Oral Squamous Cell Carcinoma Through Targeting mi RNA 124	MALAT1	Acuratețea diagnostică a MALAT1 pentru detectarea carcinomului scuamos oral și testarea țintei MALAT1, miR-124.	NCT05708209	Nu există rezultat publicat (09.04.2023).

Role of LncARN H19 in The Regulation of IGF-1R Expression	H19	Testarea relației dintre expresiile genice ale H19 și IGF-1R la pacienții cu HCC și diabet zaharat tip II pentru identificarea unor potențiale conexiuni fiziopatologice între HCC și diabetul zaharat tip II.	NCT04767750	Nu există rezultat publicat (09.04.2023).
Using Circulating Biomarkers to identify Thyroid Cancer From the Patients With Thyroid Nodules	TBD	Identificarea de biomarkeri ARN/proteine în sânge cu scopul diferențierii unui neoplasm tiroidian față de un nodul tiroidian benign.	NCT04594720	Nu există rezultat publicat (09.04.2023).
Study of RNA and Heat Shock Protein (HSP) Derived Biomarkers in Radiation-induced Fibrosis in Patients Treated for Breast Cancer	TBD	Identificarea unei semnături moleculare pentru fibroza patologică indusă de radiație, incluzând lncARN.	NCT03000764	Nu există rezultat publicat (09.04.2023).
Diagnostic Accuracy of lncRNA DQ786243 and miRNA146a in Saliva of Oral Potentially Malignant Lesions	DQ7862 43	Testarea lncARN DQ786243 ca biomarker pentru diagnosticarea leziunilor maligne orale comparativ cu controlul și efectele asupra expresiei salivare de miR-146a.	NCT05730855	Nu există rezultat publicat (09.04.2023).

[†]TBD = necesită a fi determinat

7.3. Direcții viitoare de cercetare

Pe măsură ce noi lncARN-uri sunt identificate și categorizate constant, este esențial să fie identificate și funcțiile lor biologice. În acest capitol, am revizuit informațiile actuale referitoare la implicarea lncARN-urilor în mecanismele de reglare epigenetică în cancer, precum și metodele de investigație în ceea ce privește screening-ul pentru noi lncARN-uri, identificarea funcției lncARN-urilor prin modele *in vitro* și *in vivo*. Făcând abstracție de importanța fundamentală științifică, aceste entități și-ar putea găsi curând un rol și în context clinic. La data publicării acestui capitol existau 30 de studii clinice care implicau lncARN-uri în cancer, dintre care doar 7 au fost categorizate ca și *Completed*, acestea fiind discutate în subcapitolul anterior. Abordarea translațională care are ca scop translatarea lncARN-urilor în context clinic este esențială. Acest lucru poate fi realizat doar printr-o căutare sistematică a lncARN-

urilor funcționale, care vor trebui caracterizate detaliat și comprehensiv în prim timp.

Studiile și trialurile clinice viitoare vor trebui să ia în considerare numărul în continuă creștere al lncARN-urilor, să caracterizeze corespunzător și comprehensiv funcția lor, precum și să evalueze potențialul lor diagnostic/prognostic în cancer. lncARN-uri specifice pot acționa ca biomarkeri diagnostic/prognostici pentru malignități specifice, iar viitorul ne-ar putea aduce mai aproape de implicarea acestor lncARN-uri în context terapeutic.

Bibliografie

- Ahmadov, U., Picard, D., Bartl, J., Silginer, M., Trajkovic-Arsic, M., Qin, N., Remke, M. (2021). The long non-coding RNA HOTAIRM1 promotes tumor aggressiveness and radiotherapy resistance in glioblastoma. *Cell Death Dis*, 12(10), 885. doi:10.1038/s41419-021-04146-0
- Begolli, R., Sideris, N., & Giakountis, A. (2019). lncRNAs as Chromatin Regulators in Cancer: From Molecular Function to Clinical Potential. *Cancers (Basel)*, 11(10). doi:10.3390/cancers11101524
- Chen, J., Zhuang, Y., Wang, P., Ning, J., Liu, W., Huang, Y., Zhang, D. (2022). Reducing N6AMT1-mediated 6mA DNA modification promotes breast tumor progression via transcriptional repressing cell cycle inhibitors. *Cell Death Dis*, 13(3), 216. doi:10.1038/s41419-022-04661-8
- Cheng, M., Wang, Q., Chen, L., Zhao, D., Tang, J., Xu, J., & He, Z. (2022). lncRNA UCA1/miR-182-5p/MGMT axis modulates glioma cell sensitivity to temozolomide through MGMT-related DNA damage pathways. *Hum Pathol*, 123, 59-73. doi:10.1016/j.humpath.2022.02.016
- Deng, Q., Yang, J., Chen, Y., Chen, Z., Li, J., & Fu, Z. (2023). lncRNA HOXB-AS4 promotes proliferation and migration of colorectal cancer via the miR-140-5p/hdac7 axis. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 1-19. doi:10.1080/02648725.2023.2193465
- Dong, Z., Yang, L., Lu, J., Guo, Y., Shen, S., Liang, J., & Guo, W. (2022). Downregulation of LINC00886 facilitates epithelial-mesenchymal transition through SIRT7/ELF3/miR-144 pathway in esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Exp Metastasis*, 39(4), 661-677. doi:10.1007/s10585-022-10171-w
- Fan, Y., Fan, X., Yan, H., Liu, Z., Wang, X., Yuan, Q., Yang, Y. (2022). Long non-coding ROR promotes the progression of papillary thyroid carcinoma through regulation of the TESC/ALDH1A1/TUBB3/PTEN axis. *Cell Death Dis*, 13(2), 157. doi:10.1038/s41419-021-04210-9
- Gao, N., Li, Y., Li, J., Gao, Z., Yang, Z., Li, Y., Fan, T. (2020). Long Non-Coding RNAs: The Regulatory Mechanisms, Research Strategies, and Future Directions in Cancers. *Front Oncol*, 10, 598817. doi:10.3389/fonc.2020.598817

- Greer, E. L., & Shi, Y. (2012). Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet*, *13*(5), 343-357. doi:10.1038/nrg3173
- Hardwick, S. A., Joglekar, A., Flicek, P., Frankish, A., & Tilgner, H. U. (2019). Getting the Entire Message: Progress in Isoform Sequencing. *Front Genet*, *10*, 709. doi:10.3389/fgene.2019.00709
- He, J., Dong, C., Zhang, H., Jiang, Y., Liu, T., & Man, X. (2023). The oncogenic role of TFAP2A in bladder urothelial carcinoma via a novel long noncoding RNA TPRG1-AS1/DNMT3A/CRTAC1 axis. *Cell Signal*, *102*, 110527. doi:10.1016/j.cellsig.2022.110527
- He, R. Z., Luo, D. X., & Mo, Y. Y. (2019). Emerging roles of lncRNAs in the post-transcriptional regulation in cancer. *Genes Dis*, *6*(1), 6-15. doi:10.1016/j.gendis.2019.01.003
- Herz, H. M., Garruss, A., & Shilatifard, A. (2013). SET for life: biochemical activities and biological functions of SET domain-containing proteins. *Trends Biochem Sci*, *38*(12), 621-639. doi:10.1016/j.tibs.2013.09.004
- Hsu, K. W., Lai, J. C., Chang, J. S., Peng, P. H., Huang, C. H., Lee, D. Y., Wu, K. J. (2022). METTL4-mediated nuclear N6-deoxyadenosine methylation promotes metastasis through activating multiple metastasis-inducing targets. *Genome Biol*, *23*(1), 249. doi:10.1186/s13059-022-02819-3
- Huang, W., Li, H., Yu, Q., Xiao, W., & Wang, D. O. (2022). LncRNA-mediated DNA methylation: an emerging mechanism in cancer and beyond. *J Exp Clin Cancer Res*, *41*(1), 100. doi:10.1186/s13046-022-02319-z
- Jarroux, J., Foretek, D., Bertrand, C., Gabriel, M., Szachnowski, U., Saci, Z., Morillon, A. (2021). HOTAIR lncRNA promotes epithelial-mesenchymal transition by redistributing LSD1 at regulatory chromatin regions. *EMBO Rep*, *22*(7), e50193. doi:10.15252/embr.202050193
- Jones, P. A. (2012). Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet*, *13*(7), 484-492. doi:10.1038/nrg3230
- Kong, H., Sun, J., Zhang, W., Zhang, H., & Li, H. (2022). Long intergenic non-protein coding RNA 1273 confers sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma via regulation of methyltransferase 3. *Bioengineered*, *13*(2), 3108-3121. doi:10.1080/21655979.2022.2025701
- Li, L., Gan, Y. P., & Peng, H. (2022). RAMP2-AS1 inhibits CXCL11 expression to suppress malignant phenotype of breast cancer by recruiting DNMT1 and DNMT3B. *Exp Cell Res*, *416*(2), 113139. doi:10.1016/j.yexcr.2022.113139
- Li, L., Zhou, A., Wei, Y., Liu, F., Li, P., Fang, R., Huang, S. (2022). Critical role of lncEPAT in coupling dysregulated EGFR pathway and histone H2A deubiquitination during

glioblastoma tumorigenesis. *Sci Adv*, 8(40), eabn2571.
doi:10.1126/sciadv.abn2571

- Li, W., Ma, X., Wang, F., Chen, S., Guo, Q., Sun, F., & Duan, Y. (2022). SNHG3 Affects Gastric Cancer Development by Regulating SEPT9 Methylation. *J Oncol*, 2022, 3433406. doi:10.1155/2022/3433406
- Luo, M. L. (2016). Methods to Study Long Noncoding RNA Biology in Cancer. *Adv Exp Med Biol*, 927, 69-107. doi:10.1007/978-981-10-1498-7_3
- Mattick, J. S., Amaral, P. P., Carninci, P., Carpenter, S., Chang, H. Y., Chen, L. L., Wu, M. (2023). Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. *Nat Rev Mol Cell Biol*. doi:10.1038/s41580-022-00566-8
- Morlando, M., & Fatica, A. (2018). Alteration of Epigenetic Regulation by Long Noncoding RNAs in Cancer. *Int J Mol Sci*, 19(2). doi:10.3390/ijms19020570
- Nishiyama, A., & Nakanishi, M. (2021). Navigating the DNA methylation landscape of cancer. *Trends Genet*, 37(11), 1012-1027. doi:10.1016/j.tig.2021.05.002
- Pachnis, V., Belayew, A., & Tilghman, S. M. (1984). Locus unlinked to alpha-fetoprotein under the control of the murine raf and Rif genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 81(17), 5523-5527. doi:10.1073/pnas.81.17.5523
- Pal, A. S., Agredo, A., Lanman, N. A., Son, J., Sohal, I. S., Bains, M., Kasinski, A. L. (2022). Loss of KMT5C Promotes EGFR Inhibitor Resistance in NSCLC via LINC01510-Mediated Upregulation of MET. *Cancer Res*, 82(8), 1534-1547. doi:10.1158/0008-5472.CAN-20-0821
- Pan, H., Wang, H., Zhang, X., Yang, F., Fan, X., & Zhang, H. (2022). Chromosomal instability-associated MAT1 lncRNA insulates MLL1-guided histone methylation and accelerates tumorigenesis. *Cell Rep*, 41(11), 111829. doi:10.1016/j.celrep.2022.111829
- Qian, X., Yang, J., Qiu, Q., Li, X., Jiang, C., Li, J., Lu, Y. (2021). LCAT3, a novel m6A-regulated long non-coding RNA, plays an oncogenic role in lung cancer via binding with FUBP1 to activate c-MYC. *J Hematol Oncol*, 14(1), 112. doi:10.1186/s13045-021-01123-0
- Sawan, C., & Herceg, Z. (2010). Histone modifications and cancer. *Adv Genet*, 70, 57-85. doi:10.1016/B978-0-12-380866-0.60003-4
- Shen, H., & Laird, P. W. (2013). Interplay between the cancer genome and epigenome. *Cell*, 153(1), 38-55. doi:10.1016/j.cell.2013.03.008
- Uszczynska-Ratajczak, B., Lagarde, J., Frankish, A., Guigo, R., & Johnson, R. (2018). Towards a complete map of the human long non-coding RNA transcriptome. *Nat Rev Genet*, 19(9), 535-548. doi:10.1038/s41576-018-0017-y
- Wan, Y. C. E., Liu, J., & Chan, K. M. (2018). Histone H3 Mutations in Cancer. *Curr Pharmacol Rep*, 4(4), 292-300. doi:10.1007/s40495-018-0141-6

- Wang, J., Yang, C., Cao, H., Yang, J., Meng, W., Yu, M., Wang, B. (2023). Hypermethylation-Mediated lncRNA MAGI2-AS3 Downregulation Facilitates Malignant Progression of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma via Interacting With SPT6. *Cell Transplant*, *32*, 9636897231154574. doi:10.1177/09636897231154574
- Wu, Y., & Du, J. (2022). Downregulated Reprimo by LINC00467 participates in the growth and metastasis of gastric cancer. *Bioengineered*, *13*(5), 11893-11906. doi:10.1080/21655979.2022.2063662
- Xu, Y., Li, Z., Huai, T., Huo, X., Wang, H., Bian, E., & Zhao, B. (2022). DNMT1 Mediated CAHM Repression Promotes Glioma Invasion via SPAK/JNK Pathway. *Cell Mol Neurobiol*, *42*(8), 2643-2653. doi:10.1007/s10571-021-01125-z
- Yan, J., Huang, Q. Y., Huang, Y. J., Wang, C. S., & Liu, P. X. (2022). SPATS2 is positively activated by long noncoding RNA SNHG5 via regulating DNMT3a expression to promote hepatocellular carcinoma progression. *PLoS One*, *17*(1), e0262262. doi:10.1371/journal.pone.0262262
- Yi, T., Song, Y., Zuo, L., Wang, S., & Miao, J. (2021). LINC00470 Stimulates Methylation of PTEN to Facilitate the Progression of Endometrial Cancer by Recruiting DNMT3a Through MYC. *Front Oncol*, *11*, 646217. doi:10.3389/fonc.2021.646217
- Yoon, J. H., Byun, H., Ivan, C., Calin, G. A., Jung, D., & Lee, S. (2022). lncRNAs UC.145 and PRKG1-AS1 Determine the Functional Output of DKK1 in Regulating the Wnt Signaling Pathway in Gastric Cancer. *Cancers (Basel)*, *14*(10). doi:10.3390/cancers14102369
- Yu, Y., Chen, Q., Zhang, X., Yang, J., Lin, K., Ji, C., Miao, L. (2020). Long noncoding RNA ANRIL promotes the malignant progression of cholangiocarcinoma by epigenetically repressing ERRF1 expression. *Cancer Sci*, *111*(7), 2297-2309. doi:10.1111/cas.14447
- Zhang, K., Shi, Z. M., Chang, Y. N., Hu, Z. M., Qi, H. X., & Hong, W. (2014). The ways of action of long non-coding RNAs in cytoplasm and nucleus. *Gene*, *547*(1), 1-9. doi:10.1016/j.gene.2014.06.043
- Zhang, S., Jiang, M., Cao, H., Xiong, J., & Xu, J. (2022). CTB-193M12.5 Promotes Hepatocellular Carcinoma Progression via Enhancing NSD1-Mediated WNT10B/Wnt/beta-Catenin Signaling Activation. *J Hepatocell Carcinoma*, *9*, 553-569. doi:10.2147/JHC.S365302
- Zhang, Y. (2003). Transcriptional regulation by histone ubiquitination and deubiquitination. *Genes Dev*, *17*(22), 2733-2740. doi:10.1101/gad.1156403
- Zhang, Y., Lu, C., & Cui, H. (2021). Long non-coding RNA SNHG22 facilitates hepatocellular carcinoma tumorigenesis and angiogenesis via DNA methylation of microRNA miR-16-5p. *Bioengineered*, *12*(1), 7446-7458. doi:10.1080/21655979.2021.1975969

- Zhao, C., Ling, X., Xia, Y., Yan, B., & Guan, Q. (2022). LncRNA UCA1 promotes SOX12 expression in breast cancer by regulating m(6)A modification of miR-375 by METTL14 through DNA methylation. *Cancer Gene Ther*, 29(7), 1043-1055. doi:10.1038/s41417-021-00390-w
- Zhao, Z., & Shilatifard, A. (2019). Epigenetic modifications of histones in cancer. *Genome Biol*, 20(1), 245. doi:10.1186/s13059-019-1870-5
- Zhou, Y., Li, K., Dai, T., Wang, H., Hua, Z., Bian, W., Ai, X. (2021). Long non-coding RNA HCP5 functions as a sponge of miR-29b-3p and promotes cell growth and metastasis in hepatocellular carcinoma through upregulating DNMT3A. *Aging (Albany NY)*, 13(12), 16267-16286. doi:10.18632/aging.203155
- Zhou, Y., Xiao, D., & Jiang, X. (2022). LncRNA RP3-525N10.2-NFKB1-PROS1 triplet-mediated low PROS1 expression is an onco-immunological biomarker in low-grade gliomas: a pan-cancer analysis with experimental verification. *J Transl Med*, 20(1), 335. doi:10.1186/s12967-022-03536-y

8. Centromeri & telomeri & Integritatea genomului

Andreea Nuțu¹

¹Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Introducere

Epigenetica studiază modificările ereditare în expresia genelor care nu implică modificări în secvența de bază a ADN-ului. Aceste schimbări pot fi influențate de factori externi/ de mediu, cum ar fi dieta, stresul sau expunerea la toxine și virusuri, precum și de comportamentele și experiențele individuale (Feng & Riddle, 2020; Weitzman & Fradet-Turcotte, 2018). De asemenea, factorii interni includ, printre altele, modificări epigenetice (metilarea ADN-ului, modificarea histonelor și expresia ARN-urilor non-codificatoare), eficiența căilor de reparare a ADN-ului, produsele reactive oxidante ale metabolismului și elementele transpozabile active (ET) (Aguilera & García-Muse, 2013). Aceste modificări pot afecta expresia genelor prin schimbarea modului în care ADN-ul este ambalat sau alterând legarea factorilor de transcriere la ADN (Feng & Riddle, 2020; Zhou et al., 2018).

Modificările epigenetice pot fi transmise de la o generație la alta și pot juca un rol în dezvoltarea multor boli, inclusiv cancerul, diabetul și tulburările neurologice. Înțelegerea modului în care se produc modificările epigenetice și modul în care acestea pot fi influențate de mediul înconjurător deschide drumul către noi tratamente și intervenții pentru aceste afecțiuni și alte boli (Moosavi & Ardekani, 2016).

8.1. Importanța stabilității genomice

Deteriorarea stabilității genomului, caracterizată printr-o acumulare crescută de mutații, are consecințe semnificative. Instabilitatea genomului este o caracteristică a cancerului, unde țesuturile canceroase prezintă numeroase modificări genetice în comparație cu țesuturile non-canceroase, inclusiv mutația unei singure baze azotate, modificări ale numărului de copii, rearanjamente cromozomiale și numere anormale de cromozomi (Hanahan, 2022; Sansregret et al., 2018; Tubbs & Nussenzweig, 2017). De asemenea, este asociat cu procesul de îmbătrânire, deoarece ratele de mutație tind să crească în celulele senescente (Vijg & Suh, 2013). Ratele de transpunere a elementelor transpozabile (ET) cresc, de asemenea, odată cu îmbătrânirea, contribuind la instabilitatea genomului (Fig.1) (Pal & Tyler, 2016). Aceste exemple subliniază rolul critic al stabilității genomului în asigurarea sănătății organismului și a supraviețuirii pe termen lung a unei specii (Feng & Riddle, 2020).

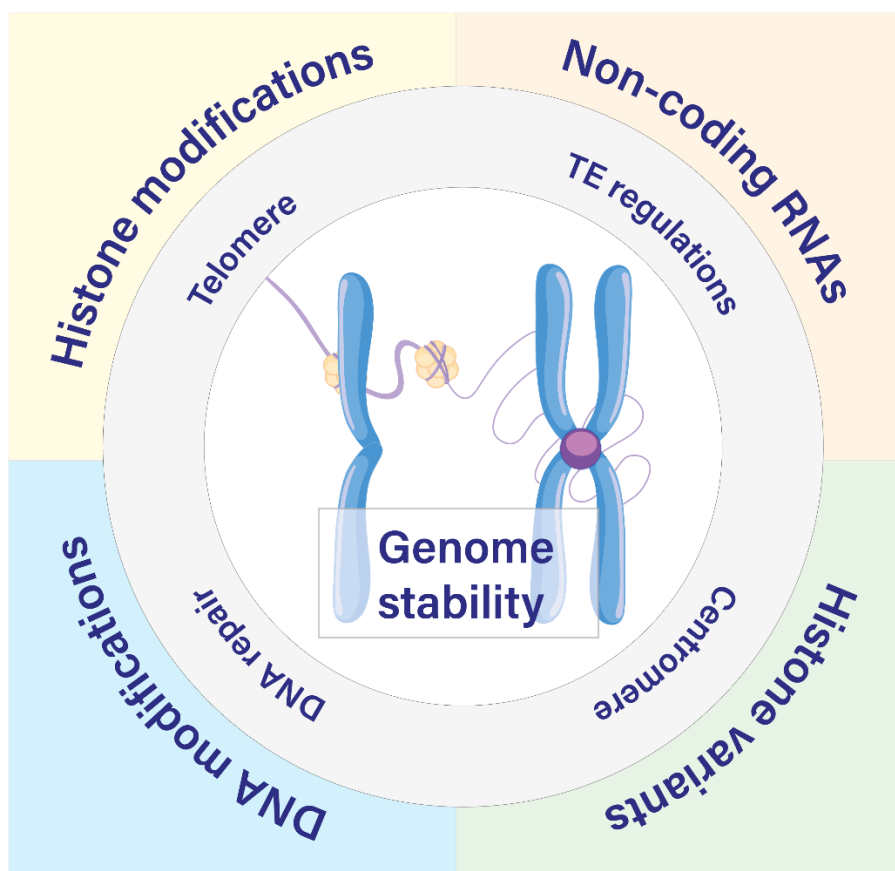


Figura 1. Interacțiunea dintre epigenetică și stabilitatea genomului. În mijloc, este prezentată semnificația critică a stabilității genomului pentru supraviețuirea organismelor și interacțiunea complexă dintre epigenetică și acest proces fundamental. Accentul se pune pe patru aspecte majore ale stabilității genomului, și anume telomerii, centromererii, reglarea ET și repararea ADN-ului, alături de mecanismele epigenetice care contribuie activ la aceste căi.

Un exemplu relevant de cale care menține integritatea genomului la om este producția de melanină în piele. Melanina protejează genomul celulelor pielii de daunele induse de radiațiile UV, reducând riscul mutațiilor și rezultând o incidență mai mică a cancerului de piele la persoanele cu niveluri mai ridicate de melanină (Brenner & Hearing, 2008). Căile de reparare a ADN-ului joacă, de asemenea, un rol crucial în menținerea stabilității genomului. Calea de reparare a capetelor non-omoloage (Non-homologous end joining - NHEJ) și calea de recombinare omoloagă (Homologous recombination - HR) sunt două mecanisme cheie care repară rupturile ADN-ului dublu catenar. Indiferent de cauza rupturii, calea de reparare NHEJ este activată pentru a repara deteriorarea ADN-ului prin ligaturarea capetelor ADN fără a se baza pe un șablon ADN omolog (Scully et al., 2019; Wright et al., 2018). Aceste exemple

demonstrează existența diverselor mecanisme care contribuie la integritatea genomului, asigurând în mod colectiv stabilitatea genomului.

8.2. Rolul centromerilor și telomerilor în menținerea integrității genomului

Atât centromerii, cât și telomerii sunt esențiali pentru menținerea stabilității genomului. Atunci când sunt compromiși, pot apărea anomalii cromozomiale, cum ar fi rearanjări, ștergeri și duplicări, care pot contribui la dezvoltarea cancerului și a altor boli, precum și la procesul de îmbătrânire (Pal & Tyler, 2016). Numeroase mecanisme epigenetice joacă un rol central în menținerea stabilității genomului, cum ar fi modificările ADN-ului, variantele și modificările histonelor, structura cromatinei și ARN-urile non-codificatoare (Gibney & Nolan, 2010). Pe lângă acestea, mecanismele epigenetice protejează genomul împotriva invaziei elementelor transpozabile (Feng & Riddle, 2020; Fischer & Riddle, 2018).

Pentru a menține integritatea genomului, celulele au dezvoltat mecanisme complexe pentru a asigura funcționarea corectă a centromerilor și telomerilor. De exemplu, celulele folosesc proteine specializate (complexul shelterin) (Fig.2) pentru a se lega și proteja telomerii, împiedicându-i să fie recunoscuți ca ADN deteriorat și declanșând un răspuns celular care ar putea duce la deteriorarea ADN-ului sau moartea celulelor (Stewart et al., 2012). În mod similar, celulele utilizează mecanisme de verificare pentru a se asigura că centromerii sunt atașați corespunzător la fibrele fusului înainte de a fi separați în timpul diviziunii celulare (Gorbsky, 2015).

8.3. Centromerii

8.3.1. Structura, compoziția și funcția centromerilor

Genomul uman este un sistem complex care păstrează toate informațiile organizate în cromozomi. Aceste informații se referă la gene și elemente de reglare, iar menținerea stabilității lor este crucială pentru supraviețuirea organismelor. Două structuri esențiale pentru toate celulele eucariote care joacă un rol vital în menținerea integrității genomului, sunt centromerii și telomerii (McEachern, 2013). O legătură puternică între epigenetică și stabilitatea genomului este asigurată de centromeri, care au un rol esențial în menținerea stabilității genomului (Feng & Riddle, 2020).

Centromerii sunt regiuni specializate ale cromozomilor de la eucariote care servesc ca locuri de atașare pentru fibrele fusului în timpul diviziunii celulare și asamblărilor kinetocorului (McKinley & Cheeseman, 2016). Ei sunt responsabili pentru asigurarea faptului că cromozomii sunt separați corespunzător în timpul mitozei și meiozei (Fincham, 2001). Mecanismul de formare și funcționare a centromerilor implică

mai multe componente, inclusiv secvențe de ADN, proteine și structură specializată a cromatinei.

Pe baza organizării centromerilor, cromozomii pot fi clasificați ca holocentrici și monocentrici (McKinley & Cheeseman, 2016; Steiner & Henikoff, 2015), care includ cele două tipuri principale de centromeri găsiți în diferite organisme: centromerii punctiformi și centromerii regionali (McKinley & Cheeseman, 2016; Westhorpe & Straight, 2013).

Proteinele centromerilor: ADN-ul centromerilor interacționează cu diferite proteine care sunt esențiale pentru funcționarea centromerilor. Un complex proteic crucial este kinetocorul, care se assemblează în regiunea centromerilor. Kinetocorul servește ca loc de atașare pentru microtubuli, care fac parte din fibrele fusului de diviziune. Kinetocorul reglează, de asemenea, mișcarea și poziționarea cromozomilor în timpul diviziunii celulare. Alte proteine, cum ar fi CENP-A, CENP-B și CENP-C, sunt, de asemenea, asociate cu centromerii și contribuie la structura și funcția lor (Dong & Li, 2022).

Mecanismul exact prin care centromerii sunt stabiliți și menținuți este încă un subiect de cercetare continuă. Cu toate acestea, combinația de secvențe ADN specifice, proteine ale centromerilor și structura cromatinei este esențială pentru funcția centromerilor. Împreună, aceste componente asigură separarea precisă a cromozomilor în timpul diviziunii celulare, ceea ce este crucial pentru menținerea stabilității genomice (Westhorpe & Straight, 2013).

8.3.2. Reglarea epigenetică a centromerilor

Reglarea epigenetică joacă un rol crucial în menținerea structurii și funcției centromerilor, care sunt esențiali pentru segregarea corectă a cromozomilor în timpul diviziunii celulare (Westhorpe & Straight, 2013). Modificările epigenetice, inclusiv metilarea ADN-ului și modificările histonelor, contribuie la stabilirea și menținerea identității și funcției centromerilor. În mod specific, prezența unor variante specifice de histone, cum ar fi CENP-A, împreună cu modificările post-tranlaționale, cum ar fi metilarea H3K9 și metilarea H4K20, sunt semne epigenetice cheie asociate cu centromerii (Allshire & Karpen, 2008; Black & Cleveland, 2011; McKinley & Cheeseman, 2016). Aceste semne epigenetice ajută la recrutarea proteinelor și kinetocorilor specifici centromerilor, asigurând segregarea precisă a cromozomilor (Westhorpe & Straight, 2015).

Cercetările efectuate pe diferite specii au demonstrat că determinarea epigenetică a poziției centromerilor, în primul rând prin prezența variantelor histonei CenH3, este un fenomen comun. Cu toate acestea, puterea unui centromer și

capacitatea sa de a asigura segregarea cromozomială precisă este influențată atât de factori genetici, cât și de epigenetici. În cromozomii monocentrici regionali, centromerii se formează în regiuni specifice de-a lungul cromozomului, dar locația exactă a localizării CenH3 poate varia între indivizi, iar blocul de cromatină care conține CenH3 poate suferi modificări. În special, studiile din genul *Equus* de Nergadze și colab. au evidențiat prezența epialelelor centromerice cu ușoare variații ale localizării cromatinei CenH3, evidențiind apariția acestor schimbări regionale în locația CenH3 (Nergadze et al., 2018).

În plus, ARN-urile non-codificatoare (ncARN) (un alt mod în care mecanismele epigenetice contribuie la funcția centromerilor și stabilitatea genomului), cum ar fi ncARN asociate centromerilor (cenARN), au fost implicate în reglarea structurii și funcției centromerilor. Natura dinamică a reglării epigenetice la centromeri permite menținerea integrității și fidelității centromerilor în diviziunile celulare (Ideue & Tani, 2020). În *S. pombe*, Volpe și colab. au arătat că ARN-urile mici derivate din "culegătorii" centromerici exteriori sunt necesare pentru funcția centromerilor (Volpe et al., 2002). Un alt exemplu este de la Rošić și colab. care au descoperit că în *Drosophila*, pierderea ARN-urilor lungi non-codante de la baza azotată 359 a centromerului duce la defecte de segregare cromozomială (Rošić et al., 2014).

Sunt necesare cercetări suplimentare pentru a înțelege pe deplin mecanismele epigenetice complexe implicate în reglarea centromerilor și implicațiile acestora pentru stabilitatea genomului (Tabelul 1).

Tabelul 1. Modificări epigenetice și funcțiile acestora

Modificări epigenetice	Funcție	Localizare	Ref.
Interconectarea heterocromatinei prin dimerizarea proteinei HP1	Rol în recrutarea complexelor de coezină la centromer, necesar pentru a lega cromatidele surori înainte de segregare	cromozomii eucarioți	(Bernard et al., 2001; Gieni et al., 2008)
Metilarea directă a ADN-ului în situsurile citozinfosfat-guanină (CpG) de către ADN metiltransferaze	Demonstrată de letalitatea eliminării ADN-metiltransferazei la șoareci.	centromeri	(Gieni et al., 2008; Lettini et al., 2007)
Hipometilarea sateliților ADN clasici	Duce către o imunodeficiență genetică rară – instabilitate centromerică – sindrom de	modificare epigenetică a	(Jiang et al., 2005)

2 și 3 și a ADN-ului a-satelit	dismorfism facial (ICG)	funcției centromerului și kinetocorului	
Încorporarea CENH3	Definește locația centromerilor ereditari; Substrat pentru construcția kinetocorului; Ajustarea cu H3 este importantă în conformarea buclelor.	ADN-ul centromeric	(Gieni et al., 2008)
Metilarea lizinei 9 pe histona H3 (MeK9 H3)	Asigură situsul de legare HP1 (MeK9 H3) Compactarea cromatinei; Acumularea de coezină; Asigură integritatea structurală.	Heterocromatină pericentrică	(Cheung și Lau, 2005)
Metilarea lizinei 20 pe histona H4 (MeK20 H4)	Compactarea cromatinei; Oferă integritate structurală.	Heterocromatină pericentrică	(Van Nuland și Gozani, 2016)
Metilarea lizinei 4 pe histona H3 (diMeK4 H3)	Marker de eucromatină găsit în cromatina CEN; Implicat în conformația buclei.	Cromatină centromerică	(Cheung & Lau, 2005; Van Nuland și Gozani, 2016)
Fosforilare	Necesar pentru acumularea Aurora B la centromer	CENH3	(Pinsky și Biggins, 2005)
Metilarea ADN-ului	Condensarea heterocromatinei; Integritatea heterocromatinei.	Centromeric În ADN-ul satelitar pericentric	(Schueler et al., 2001)
H3K27me	Reprimarea transcripțională a elementelor transpozabile	Pericentromerice	(Jacob et al., 2010)
H4K20me	Condensarea cromatinei asigură integritatea structurală	Pericentromerice	(Hori et al., 2014)
H3K9me	Condensarea cromatinei asigură coeziunea cromatidică și asigură integritatea structurală	Pericentromerice	(Gieni et al., 2008)
H2B monoubiquitinat (H2Bub1)	Necesar pentru activitatea transcripțională; Asigură integritatea structurală necesară pentru segregarea cromozomială adecvată.	Centromerică	(Sadeghi et al., 2014)
H2AT133ph	Recrutarea proteinei Shugoshin (Sgo1)	Centromerică	(Kawashima et al.,

H2AT120ph	previne separarea precoce a cromatidelor surori		2010)
H4K20ac	Necesare pentru activitatea transcripțională necesară formării kinetocorului în celulele umane și celule <i>Gallus</i>	Centromerică	(Shang et al., 2016)
H4K5ac și H4K12ac	Depunerea CENP-A	Centromerică	(Shang et al., 2016; Turner, 1991)
Varianta histonei cenH3 CENP-A	Specifică locația centromerului esențială pentru asamblarea kinetocorului	Centromerică	(Gieni et al., 2008)
H3K4me1/2 (+)	Recrutarea proteinelor HJURP care participă la depunerea CENP-A	Telomeri	(Achrem et al., 2020; Duda et al., 2017)
H4K20me1/3 (+)	Analiza ChIP-seq a telomerilor diferitelor celule umane îmbogățite cu modificări ale eucromatinei H4K20me1 și H3K27ac Me3-TERRA transcriere (ARN care conține repetare telomerică) care este necesară pentru formarea heterocromatinei telomerice, influențează cantitatea de H3K9me3, H4K20me3 și H3K27me3	Telomeri Regiuni subtelomerice	(Cubiles et al., 2018; Montero et al., 2018)
H3K27ac (+)	Analiza ChIP-seq a telomerilor diferitelor celule umane îmbogățite cu modificări ale eucromatinei H4K20me1 și H3K27ac	Telomeri	(Vaquero-Sedas și Vega-Palas, 2019)
H3K79me2 (+)	Dot1L HMTaza mediază metilarea lizinei 79 în H3	Telomeri	(Shanower et al., 2005)

8.3.3. Anomaliile centromerilor și impactul acestora asupra integrității genomului

Anomaliile centromerilor pot avea efecte profunde asupra integrității genomului, ducând la instabilitate cromozomială și la un risc crescut de rearanjare genomică (Barra & Fachinetti, 2018). Au fost identificate diverse disfuncții ale centromerilor, inclusiv plasarea incorectă, pierderea și modificări ale dimensiunii și structurii centromerilor. Aceste anomalii pot perturba segregarea exactă a cromozomilor în timpul diviziunii celulare, ducând la rupere, fuziune, aneuploidie și

poliploidie potențială din cauza eșecului citokinezei (Barra & Fachinetti, 2018; Black et al., 2010; Cleveland et al., 2003). Astfel de erori în segregarea cromozomilor pot duce la mutații genetice, rearanjamente cromozomiale și instabilitate genomică, care sunt asociate cu dezvoltarea cancerului și a unor tulburări genetice (Cleveland et al., 2003).

În plus, disfuncția centromerilor și cromozomii întârziți pot duce la formarea de micronuclee, făcând ADN-ul inclus predispus la daune mai mari și erori de replicare, contribuind astfel la instabilitatea genomică (Chunduri & Storchová, 2019). În cele din urmă, disfuncția centromerelor declanșează multiple mecanisme care duc la instabilitatea genomică, putând rezulta în moartea celulară atunci când sunt activate punctele de control ale ciclului celular corespunzătoare (Caneus et al., 2018).

Înțelegerea cauzelor și consecințelor anomaliilor centromerilor este crucială pentru descifrarea mecanismelor care stau la baza instabilității genomului și pentru dezvoltarea strategiilor de prevenire sau atenuare a impactului acestora asupra sănătății umane.

8.4. Telomeri

8.4.1. Structura, compoziția și localizarea telomerilor

Telomerii, asemenea centromerilor, reprezintă o altă structură cromozomială crucială care joacă un rol vital în menținerea stabilității genomului. Aceste structuri se bazează, de asemenea, pe mecanisme epigenetice pentru a asigura funcționarea lor optimă (Feng & Riddle, 2020).

Telomerii sunt secvențe nucleotidice specializate situate la capetele cromozomilor liniari. La nivel molecular, aceștia sunt constituiți din secvențe repetitive de ADN, de obicei 5' TTAGGG 3' la om (De Lange, 2005), împreună cu proteinele asociate (de exemplu, proteinele cromatinei) și telomeraza (un complex ribonucleoproteic cu capacitate de reverstranscriptază) (Feng & Riddle, 2020; Palm & De Lange, 2008) care formează o structură protectoare asemănătoare capacului (Blackburn et al., 2015). Această structură unică protejează capetele cromozomilor de degradare, protejează lungimea și funcția telomerilor și împiedică recunoașterea lor ca ADN deteriorat, prevenind astfel activitățile incorecte de reparare a ADN-ului și rearanjamentele cromozomiale (Feng & Riddle, 2020; O'Sullivan & Karlseder, 2010). Telomerii se scurtează treptat cu fiecare diviziune celulară din cauza "problemei de replicare la capete" și a altor factori, ducând în cele din urmă la senescentă celulară sau apoptoză (Harley et al., 1990; Vettorelli & Passos, 2017).

Componenta de bază a telomerilor este complexul shelterin (Fig.2) (Palm & De Lange, 2008), care reprezintă un complex de proteine ale cromatinei prezent în eucariote. (De Lange, 2005). Funcția sa principală este de a preveni fuziunea

telomerilor între ei, asigurând astfel păstrarea integrității și stabilității telomerilor. Complexul shelterin eucariot este compus din șase subunități proteice de bază, cum ar fi: TRF1, TRF2, POT1, TPP1, TIN2 și RAP1 (Celli & de Lange, 2005; De Lange, 2005; Xin et al., 2008). Aceste proteine contribuie colectiv la menținerea și reglarea lungimii telomerilor, la protecția împotriva deteriorării ADN-ului și la prevenirea activităților incorecte de reparare a ADN-ului (Feng & Riddle, 2020).

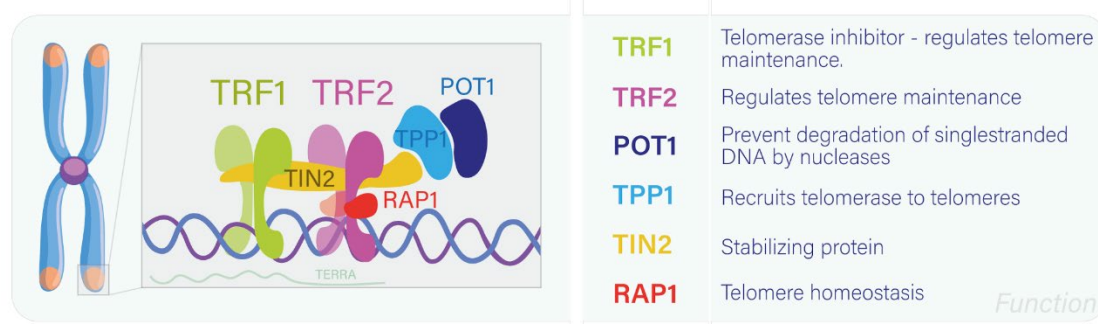


Figura 2. Structura telomerilor și complexul shelterin cu subunitățile proteice din care este compus (TRF1, TRF2, POT1, TPP1, TIN2 și RAP1)

8.4.2. Rolul telomerilor în stabilitatea și replicarea cromozomilor

Telomerii joacă un rol crucial în păstrarea stabilității și integrității genomului, acționând ca un tampon împotriva pierderii materialului genetic în timpul replicării ADN-ului și prevenirea recunoașterii capetelor cromozomiale ca fracturi ale ADN-ului dublucatenar (Verdun & Karlseder, 2007; Victorelli & Passos, 2017).

Telomerii oferă o structură stabilă pentru ca mașinăria de replicare să finalizeze sinteza ADN-ului, asigurând duplicarea fidelă a întregului cromozom (Sampathi & Chai, 2011). În plus, telomerii ajută la menținerea stabilității cromozomiale prin prevenirea evenimentelor inadecvate de recombinare și fuziune care ar putea duce la aberații cromozomiale (O'Sullivan & Karlseder, 2010). Disfuncția sau scurtarea telomerilor poate duce la replicarea afectată, deteriorarea ADN-ului și instabilitatea genomică (Victorelli & Passos, 2017).

Chow și colab. au efectuat un studiu pentru a explora impactul creșterii nivelului proteinei heterocromatinei HP1 α în mod specific la telomeri, având în vedere că cromatina telomerică este de obicei clasificată ca heterocromatică. Pentru a realiza acest lucru, au fuzionat HP1 α cu proteina shelterin TRF1, rezultând o compoziție modificată a cromatinei telomerilor. Recrutarea proteinei de fuziune TRF1-HP1 α la telomeri a dus la o creștere a formării heterocromatinei, modificarea structurii tridimensionale a telomerilor și restricționarea accesului telomerazei. Aceste

constatări sugerează atât efecte pozitive, cât și negative asupra funcției telomerilor. Acest studiu evidențiază importanța structurii cromatinei în influențarea funcției telomerilor și oferă dovezi suplimentare ale interacțiunii dintre sistemele epigenetice și instabilitatea genomului (Chow et al., 2018).

Înțelegerea rolului telomerilor în stabilitatea și replicarea cromozomilor este vitală pentru dezvoltarea funcțiilor lor și a mecanismelor care stau la baza bolilor legate de telomeri, cum ar fi cancerul (Bryan et al., 1997) îmbătrânirea (Blackburn et al., 2015) și bolile legate de vârstă (sindroamele de îmbătrânire prematură) (De Lange, 2009; O'Sullivan și Karlseder, 2010; Xin et al., 2008).

8.4.3. Bolile asociate telomerilor și reglarea epigenetică

Bolile asociate telomerilor sunt un grup de tulburări caracterizate prin lungimea anormală a telomerilor sau disfuncția, ducând la diverse manifestări clinice. O astfel de boală este diskeratoza congenitală, o tulburare moștenită rară asociată cu mutații ale telomerazei care conduc la telomeri critic de scurți și anomalii ale mai multor sisteme de organe (Calado & Young, 2009). O altă tulburare legată de telomeri este fibroza pulmonară idiopatică, în care telomerii scurtați afectează capacitatea regenerativă a țesutului pulmonar (Alder et al., 2011; Armanios & Blackburn, 2012; Calado & Young, 2009). Un alt exemplu este reglarea epigenetică, cum ar fi modificările metilării la anumite regiuni genetice care s-au dovedit a fi asociate cu disfuncția telomerilor implicată în bolile legate de vârstă, inclusiv bolile cardiovasculare (Hegele & Dichgans, 2010), ciroză hepatică și tulburări neurodegenerative. În plus, disfuncția telomerilor este strâns legată de dezvoltarea cancerului, deoarece telomerii critici de scurți pot declanșa instabilitate genomică și anomalii cromozomiale (Martínez & Blasco, 2017).

Mecanismele moleculare epigenetice, cum ar fi modificarea histonelor, remodelarea cromatinei, metilarea ADN-ului și ARN de interferență, sunt implicate în reglarea și modificarea telomerilor (Fig.3). Aceste procese epigenetice joacă un rol crucial în menținerea structurii, funcției și stabilității telomerilor. În acest caz, modificările epigenetice afectează lungimea sau structura telomerilor, având un rol important în menținerea acestora (Song & Johnson, 2018).

Regiunea promotorului subunității catalitice TERT a telomerazei, la fel ca și alte gene, conține o insulă CpG, sugerând că metilarea joacă un rol important în reglarea expresiei sale (Zhu et al., 2010). În plus, hipermetilarea TERT a fost legată de inhibarea stabilă a activității sale de promotor (Gigek et al., 2009; Iliopoulos et al., 2009). Starea represivă a promotorului TERT a fost, de asemenea, atribuită deacetilării și metilării histonelor (Gigek et al., 2009).

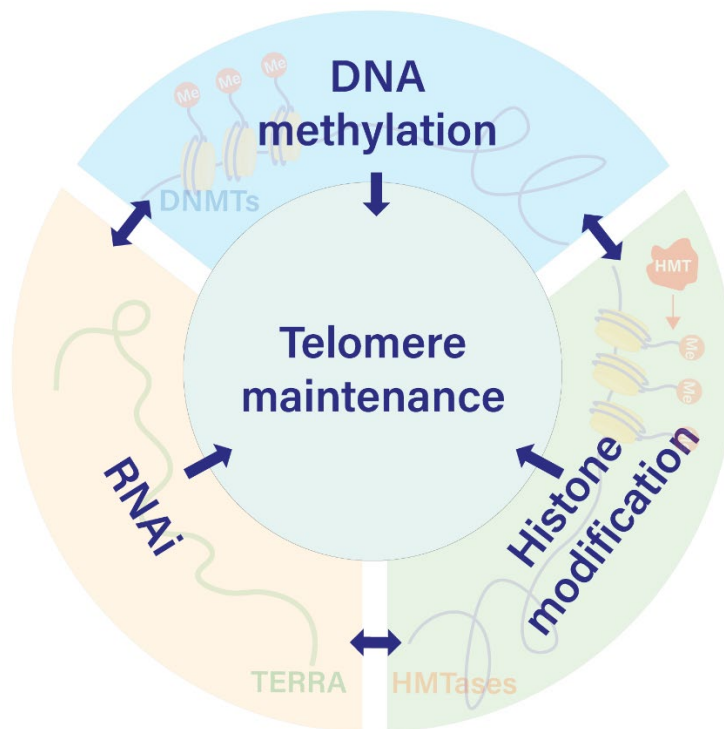


Figura 3. Interacțiunile dintre căile epigenetice și menținerea telomerilor. Telomerii oferă puncte de focalizare pentru procesele moleculare epigenetice, cum ar fi modificarea histonelor, remodelarea cromatinei, metilarea ADN-ului și ARN-ul de interferență.

Înțelegerea implicațiilor bolilor asociate telomerilor este crucială pentru îmbunătățirea abordărilor de diagnosticare, dezvoltarea terapilor țintite și elucidarea rolului extins al disfuncției telomerilor în sănătatea și bolile umane (Calado & Young, 2009).

8.4.4. Evoluții recente în cercetarea telomerilor

Dezvoltările recente în cercetarea telomerilor au furnizat perspective captivante asupra diferitelor aspecte ale biologiei telomerilor și implicațiilor lor în sănătate și boală. În plus, studiile au descoperit noi proteine de legare a telomerilor, molecule de ARN telomerice și funcții necanonice ale telomerazei dincolo de întreținerea telomerilor (Ségal-Bendirdjian & Geli, 2019). În plus, cercetările s-au concentrat asupra rolului telomerilor în senescența celulară, îmbătrânirea și bolile legate de vârstă, precum și potențialul lor ca ținte terapeutice. Noul domeniu al diagnosticului și terapiei bazate pe telomeri arată promisiuni în dezvoltarea de abordări

inovatoare în medicina personalizată. În general, evoluțiile recente în cercetarea telomerilor ne-au extins înțelegerea biologiei telomerilor și au deschis noi căi pentru explorarea rolurilor lor în sănătatea și bolile umane (Sfeir, 2012; Shay & Wright, 2019).

8.5. Interacțiunea dintre centromeri, telomeri și integritatea genomului

8.5.1. Mecanisme de reparare al ADN-ului la nivelul centromerilor și telomerilor

Mecanismele de reparare a ADN-ului la nivelul centromerilor și telomerilor joacă roluri cruciale în menținerea stabilității și integrității genomului. Atât centromerii, cât și telomerii prezintă provocări unice pentru repararea ADN-ului datorită structurilor și funcțiilor lor specializate. La nivelul centromerilor, mecanismele de reparare al ADN-ului implică în primul rând căi de recombinare omoloagă (HR) și non-omoloage de îmbinare finală (NHEJ) (Tsouroula et al., 2016). HR este esențială pentru repararea rupturilor dublu catenară (DSB) și asigurarea segregării cromozomiale fidele în timpul diviziunii celulare (Li și Heyer, 2008). NHEJ, pe de altă parte, poate repara DSB, dar poate duce, de asemenea, la rearanjamente cromozomiale și pierderea integrității centromerilor (Lieber et al., 2010). Telomerii, fiind secvențe repetitive de ADN, necesită mecanisme specializate de reparare pentru a preveni pierderea sau fuziunea telomerilor. Telomeraza și proteinele asociate telomerilor participă la menținerea lungimii și structurii telomerilor, asigurând în același timp integritatea telomerilor în timpul proceselor de reparare (Lewis & Wuttke, 2012; Lu et al., 2013).

Adăugarea de repetări telomerice la capetele cromozomilor este facilitată de holoenzima telomerazei și de o structură nucleoproteică distinctă, unde o serie de proteine asociate telomerilor se leagă de ADN-ul telomer, formând complexe specializate de proteine/ ADN. Complexul telomerazei constă din reverstranscriptaza telomerică (TERT), componenta ARN telomeric (TERC) și factori auxiliari (Fig.2). Împreună, ele joacă un rol crucial în alungirea telomerilor, menținerea stabilității cromozomiale și prevenirea pierderii informațiilor genetice (Lu et al., 2013).

În plus, telomerii utilizează calea alternativă de prelungire a telomerilor (ALT), un mecanism bazat pe recombinare, pentru a rezolva deteriorarea ADN-ului și pentru a facilita alungirea telomerilor. În studiul lor, Tan și colab. au analizat lungimile cozii de 3' necesare pentru diferite reacții finale. Descoperirile lor au arătat că o lungime minimă a cozii de 6, 8 și 12 nucleotide (nt) este necesară pentru procese distincte, cum ar fi derularea telomerilor G-quadruplex, extinderea telomerilor prin telomerază și prelungirea alternativă a mecanismului telomerilor (ALT) (Lu et al., 2013; Q. Wang et al., 2011). Înțelegerea mecanismelor complexe de reparare a ADN-ului la centromeri și telomeri este esențială pentru descifrarea rolurilor lor în stabilitatea genomului și prevenirea bolilor precum cancerul. De asemenea, ei sugerează că prezența unei cozi

de nucleotide ≤ 5 (nt) la capătul distal cel mai îndepărtat 3' al ADN-ului telomerilor indică un rol potențial pentru cvadruplexurile G ale telomerilor în reglarea reacțiilor finale menționate mai sus la capetele cromozomiale (Q. Wang et al., 2011). Acest lucru sugerează că structurile telomerilor G-quadruplex joacă un rol regulator în activitățile diferitelor enzime, inclusiv telomeraza, în regiunile terminale ale cromozomilor. Această reglare este crucială pentru reglarea lungimii telomerilor și protejarea capetelor. Prin urmare, cvadruplexurile G ale telomerilor ar putea servi drept ținte promițătoare pentru intervențiile terapeutice care vizează abordarea proceselor legate de îmbătrânire și cancer (Lu et al., 2013).

8.6. Implicatii terapeutice si direcții viitoare

8.6.1. Vizarea centromerilor și telomerilor în tratamentul bolilor

Țintirea centromerelor și telomerelor a devenit o strategie promițătoare pentru tratamentul bolilor. Centromerii și telomerii disfuncționali sunt asociați cu diferite boli, inclusiv cancerul și tulburările genetice. Noile abordări terapeutice urmăresc să exploateze vulnerabilitățile acestor regiuni genomice pentru a viza selectiv celulele "bolnave". De exemplu, terapiile țintite pot perturba buna funcționare a centromerilor, ducând la erori mitotice și moartea celulelor în celulele canceroase (Levine & Holland, 2018). Inhibitorii de telomerază și agenții de direcționare a telomerelor au arătat potențialul de a inhiba menținerea telomerilor și de a induce disfuncția telomerelor, conducând în cele din urmă la oprirea creșterii sau moartea celulelor canceroase (Martínez & Blasco, 2017). În plus, se depun eforturi pentru a dezvolta molecule mici și strategii de terapie genică care vizează în mod specific centromerii și telomerii pentru a trata tulburările genetice și bolile legate de vârstă (K. Wang et al., 2022). Țintirea centromerilor și telomerilor este foarte promițătoare pentru dezvoltarea unor terapii precise și eficiente pentru combaterea unei game largi de boli (De Cian et al., 2008; Yu et al., 2023).

8.6.2. Abordări noi pentru studierea și manipularea centromerilor și telomerilor

Abordările noi pentru studierea și manipularea centromerilor și telomerilor au oferit perspective valoroase asupra structurii, funcției și dinamicii lor. Tehnici avansate de imagistică, cum ar fi microscopia de super-rezoluție și imagistica cu celule vii (Nannas & Dawe, 2016), au permis vizualizarea detaliată și caracterizarea centromerilor și telomerilor în timp real, dezvăluind organizarea și dinamica lor spațială în nucleu (Doksani et al., 2013; Kubalová et al., 2023; Ranjan și Chen, 2021). În plus, tehnologiile de editare a genomului, inclusiv CRISPR/ Cas9, au facilitat manipularea

precisă a secvențelor centromere și telomeri, permițând cercetătorilor să investigheze consecințele funcționale ale modificărilor specifice (Porika et al., 2022; K. Wang et al., 2022). În plus, dezvoltarea moleculelor mici și a agenților terapeutici care vizează centromerii și telomerii a deschis noi direcții pentru intervenții terapeutice în bolile asociate cu instabilitatea genomică (Nassar et al., 2023). Aceste abordări inovatoare promit să avanseze înțelegerea noastră despre biologia centromerilor și telomerilor și ar putea deschide calea pentru strategii inovatoare de manipulare a acestor regiuni genomice în scopuri terapeutice.

Concluzie și direcții viitoare

În concluzie, explorarea centromerilor, telomerilor și a rolurilor mecanismelor epigenetice în menținerea integrității genomului este un domeniu de cercetare captivant și în continuă evoluție. Sistemele epigenetice reglează organizarea centromerilor, asigurând segregarea precisă a cromozomilor în timpul diviziunii celulare (Li și Heyer, 2008). Perturbarea acestor mecanisme poate duce la anomalii cromozomiale și moartea celulară. În mod similar, reglarea epigenetică este crucială pentru păstrarea integrității telomerilor, deoarece telomerii își pot scurta sau pierde funcția protectoare fără un control epigenetic adecvat. Mai mult, mecanismele epigenetice joacă roluri esențiale în căile de reparare a ADN-ului, contribuind la stabilitatea generală a genomului (Aguilera & García-Muse, 2013). Deși implicarea sistemelor epigenetice în stabilitatea genomului este bine stabilită, există cercetări în curs de desfășurare pentru a descoperi detalii suplimentare și pentru a înțelege impactul acestora asupra reglării genelor. Studiile comparative între specii oferă perspective valoroase, dezvăluind noi legături între epigenetică și stabilitatea genomului (Feng & Riddle, 2020). Domenii promițătoare pentru cercetările viitoare includ variantele de histone, structura telomerelor și centromerele, deoarece variabilitatea observată între specii sugerează descoperiri suplimentare în viitor.

Descoperirile viitoare în acest domeniu au potențialul de a revoluționa înțelegerea proceselor biologice fundamentale și au un impact profund asupra sănătății umane. Prin descoperirea mecanismelor complexe care stau la baza reglării centromerilor și telomerilor, putem obține perspective asupra cauzelor instabilității genomice, îmbătrânirii și diferitelor boli, inclusiv cancerul și tulburările genetice. În plus, progresele tehnologice și instrumentele de cercetare ne vor permite să dezvoltăm terapii țintite care să exploateze vulnerabilitățile centromerilor și telomerilor pentru tratamentul bolilor. Identificarea de noi markeri de diagnostic și dezvoltarea abordărilor de medicină personalizată sunt, de asemenea, rezultate potențiale ale descoperirilor viitoare.

Bibliografie

- Achrem, M., Szućko, I., & Kalinka, A. (2020). The epigenetic regulation of centromeres and telomeres in plants and animals. *Comparative Cytogenetics*, *14*(2), 265–311. <https://doi.org/10.3897/COMPCYTOGEN.V14I2.51895>
- Aguilera, A., & García-Muse, T. (2013). Causes of genome instability. *Annual Review of Genetics*, *47*, 1–32. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-GENET-111212-133232>
- Alder, J. K., Guo, N., Kembou, F., Parry, E. M., Anderson, C. J., Gorgy, A. I., Walsh, M. F., Sussan, T., Biswal, S., Mitzner, W., Tudor, R. M., & Armanios, M. (2011). Telomere length is a determinant of emphysema susceptibility. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *184*(8), 904–912. <https://doi.org/10.1164/RCCM.201103-0520OC>
- Allshire, R. C., & Karpen, G. H. (2008). Epigenetic regulation of centromeric chromatin: old dogs, new tricks? *Nature Reviews. Genetics*, *9*(12), 923–937. <https://doi.org/10.1038/NRG2466>
- Armanios, M., & Blackburn, E. H. (2012). The telomere syndromes. *Nature Reviews. Genetics*, *13*(10), 693–704. <https://doi.org/10.1038/NRG3246>
- Barra, V., & Fachinetti, D. (2018). The dark side of centromeres: types, causes and consequences of structural abnormalities implicating centromeric DNA. *Nature Communications*, *9*(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-018-06545-Y>
- Bernard, P., Maure, J. F., Partridge, J. F., Genier, S., Javerzat, J. P., & Allshire, R. C. (2001). Requirement of heterochromatin for cohesion at centromeres. *Science (New York, N.Y.)*, *294*(5551), 2539–2542. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1064027>
- Black, B. E., & Cleveland, D. W. (2011). Epigenetic centromere propagation and the nature of CENP-a nucleosomes. *Cell*, *144*(4), 471–479. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2011.02.002>
- Black, B. E., Jansen, L. E. T., Foltz, D. R., & Cleveland, D. W. (2010). Centromere identity, function, and epigenetic propagation across cell divisions. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, *75*, 403–418. <https://doi.org/10.1101/SQB.2010.75.038>
- Blackburn, E. H., Epel, E. S., & Lin, J. (2015). Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science (New York, N.Y.)*, *350*(6265), 1193–1198. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAB3389>
- Brenner, M., & Hearing, V. J. (2008). The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochemistry and Photobiology*, *84*(3), 539–549. <https://doi.org/10.1111/J.1751-1097.2007.00226.X>
- Bryan, T. M., Englezou, A., Dalla-Pozza, L., Dunham, M. A., & Reddel, R. R. (1997). Evidence for an alternative mechanism for maintaining telomere length in human tumors and tumor-derived cell lines. *Nature Medicine*, *3*(11), 1271–1274.

<https://doi.org/10.1038/NM1197-1271>

- Calado, R. T., & Young, N. S. (2009). Telomere diseases. *The New England Journal of Medicine*, *361*(24), 2353–2365. <https://doi.org/10.1056/NEJMRA0903373>
- Caneus, J., Granic, A., Rademakers, R., Dickson, D. W., Coughlan, C. M., Chial, H. J., & Potter, H. (2018). Mitotic defects lead to neuronal aneuploidy and apoptosis in frontotemporal lobar degeneration caused by MAPT mutations. *Molecular Biology of the Cell*, *29*(5), 575–586. <https://doi.org/10.1091/MBC.E17-01-0031>
- Celli, G. B., & de Lange, T. (2005). DNA processing is not required for ATM-mediated telomere damage response after TRF2 deletion. *Nature Cell Biology*, *7*(7), 712–718. <https://doi.org/10.1038/NCB1275>
- Cheung, P., & Lau, P. (2005). Epigenetic regulation by histone methylation and histone variants. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, *19*(3), 563–573. <https://doi.org/10.1210/ME.2004-0496>
- Chow, T. T., Shi, X., Wei, J. H., Guan, J., Stadler, G., Huang, B., & Blackburn, E. H. (2018). Local enrichment of HP1alpha at telomeres alters their structure and regulation of telomere protection. *Nature Communications*, *9*(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-018-05840-Y>
- Chunduri, N. K., & Storchová, Z. (2019). The diverse consequences of aneuploidy. *Nature Cell Biology*, *21*(1), 54–62. <https://doi.org/10.1038/S41556-018-0243-8>
- Cleveland, D. W., Mao, Y., & Sullivan, K. F. (2003). Centromeres and kinetochores: From epigenetics to mitotic checkpoint signaling. *Cell*, *112*(4), 407–421. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00115-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00115-6)
- Cubiles, M. D., Barroso, S., Vaquero-Sedas, M. I., Enguix, A., Aguilera, A., & Vega-Palas, M. A. (2018). Epigenetic features of human telomeres. *Nucleic Acids Research*, *46*(5), 2347–2355. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKY006>
- De Cian, A., Lacroix, L., Douarre, C., Temime-Smaali, N., Trentesaux, C., Riou, J. F., & Mergny, J. L. (2008). Targeting telomeres and telomerase. *Biochimie*, *90*(1), 131–155. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCHI.2007.07.011>
- De Lange, T. (2005). Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes & Development*, *19*(18), 2100–2110. <https://doi.org/10.1101/GAD.1346005>
- De Lange, T. (2009). How telomeres solve the end-protection problem. *Science (New York, N.Y.)*, *326*(5955), 948–952. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1170633>
- Doksani, Y., Wu, J. Y., De Lange, T., & Zhuang, X. (2013). Super-resolution fluorescence imaging of telomeres reveals TRF2-dependent T-loop formation. *Cell*, *155*(2), 345. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2013.09.048>
- Dong, Q., & Li, F. (2022). Cell cycle control of kinetochore assembly. *Nucleus (Austin, Tex.)*, *13*(1), 208–220. <https://doi.org/10.1080/19491034.2022.2115246>

- Duda, Z., Trusiak, S., & O'Neill, R. (2017). Centromere Transcription: Means and Motive. *Progress in Molecular and Subcellular Biology*, *56*, 257–281. https://doi.org/10.1007/978-3-319-58592-5_11
- Feng, J. X., & Riddle, N. C. (2020). Epigenetics and genome stability. *Mammalian Genome: Official Journal of the International Mammalian Genome Society*, *31*(5–6), 181–195. <https://doi.org/10.1007/S00335-020-09836-2>
- Fincham, J. R. S. (2001). Centromere. *Encyclopedia of Genetics*, 320–323. <https://doi.org/10.1006/RWGN.2001.0179>
- Fischer, K. E., & Riddle, N. C. (2018). Sex Differences in Aging: Genomic Instability. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, *73*(2), 166–174. <https://doi.org/10.1093/GERONA/GLX105>
- Gieni, R. S., Chan, G. K. T., & Hendzel, M. J. (2008). Epigenetics regulate centromere formation and kinetochore function. *Journal of Cellular Biochemistry*, *104*(6), 2027–2039. <https://doi.org/10.1002/JCB.21767>
- Gigek, C. O., Leal, M. F., Silva, P. N. O., Lisboa, L. C. F., Lima, E. M., Calcagno, D. Q., Assumpção, P. P., Burbano, R. R., & Smith, M. D. A. C. (2009). hTERT methylation and expression in gastric cancer. *Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, *14*(8), 630–636. <https://doi.org/10.3109/13547500903225912>
- Gorbsky, G. J. (2015). The spindle checkpoint and chromosome segregation in meiosis. *The FEBS Journal*, *282*(13), 2458–2474. <https://doi.org/10.1111/FEBS.13166>
- Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*, *12*(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- Harley, C. B., Futcher, A. B., & Greider, C. W. (1990). Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*, *345*(6274), 458–460. <https://doi.org/10.1038/345458A0>
- Hegele, R. A., & Dichgans, M. (2010). Advances in stroke 2009: update on the genetics of stroke and cerebrovascular disease 2009. *Stroke*, *41*(2). <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.571034>
- Hori, T., Shang, W. H., Toyoda, A., Misu, S., Monma, N., Ikeo, K., Molina, O., Vargiu, G., Fujiyama, A., Kimura, H., Earnshaw, W. C., & Fukagawa, T. (2014). Histone H4 Lys 20 monomethylation of the CENP-A nucleosome is essential for kinetochore assembly. *Developmental Cell*, *29*(6), 740–749. <https://doi.org/10.1016/J.DEVCEL.2014.05.001>
- Ideue, T., & Tani, T. (2020). Centromeric Non-Coding RNAs: Conservation and Diversity in Function. *Non-Coding RNA*, *6*(1). <https://doi.org/10.3390/NCRNA6010004>
- Iliopoulos, D., Oikonomou, P., Messinis, I., & Tsezou, A. (2009). Correlation of promoter hypermethylation in hTERT, DAPK and MGMT genes with cervical oncogenesis

- progression. *Oncology Reports*, *22*(1), 199–204. https://doi.org/10.3892/OR_00000425
- Jacob, Y., Stroud, H., Leblanc, C., Feng, S., Zhuo, L., Caro, E., Hassel, C., Gutierrez, C., Michaels, S. D., & Jacobsen, S. E. (2010). Regulation of heterochromatic DNA replication by histone H3 lysine 27 methyltransferases. *Nature*, *466*(7309), 987–991. <https://doi.org/10.1038/NATURE09290>
- Jiang, Y. L., Rigolet, M., Bourc'his, D., Nigon, F., Bokesoy, I., Fryns, J. P., Hultén, M., Jonveaux, P., Maraschio, P., Mégarbané, A., Moncla, A., & Viegas-Péquignot, E. (2005). DNMT3B mutations and DNA methylation defect define two types of ICF syndrome. *Human Mutation*, *25*(1), 56–63. <https://doi.org/10.1002/HUMU.20113>
- Kawashima, S. A., Yamagishi, Y., Honda, T., Lshiguro, K. I., & Watanabe, Y. (2010). Phosphorylation of H2A by Bub1 prevents chromosomal instability through localizing shugoshin. *Science (New York, N.Y.)*, *327*(5962), 172–177. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1180189>
- Kubalová, I., Weissart, K., Houben, A., & Schubert, V. (2023). Super-resolution microscopy reveals the number and distribution of topoisomerase II α and CENH3 molecules within barley metaphase chromosomes. *Chromosoma*, *132*(1), 19–29. <https://doi.org/10.1007/S00412-023-00785-8>
- Letтини, A. A., Guidoboni, M., Fonsatti, E., Anzalone, L., Cortini, E., & Maio, M. (2007). Epigenetic remodelling of DNA in cancer. *Histology and Histopathology*, *22*(12), 1413–1424. <https://doi.org/10.14670/HH-22.1413>
- Levine, M. S., & Holland, A. J. (2018). The impact of mitotic errors on cell proliferation and tumorigenesis. *Genes & Development*, *32*(9–10), 620–638. <https://doi.org/10.1101/GAD.314351.118>
- Lewis, K. A., & Wuttke, D. S. (2012). Telomerase and telomere-associated proteins: structural insights into mechanism and evolution. *Structure (London, England: 1993)*, *20*(1), 28–39. <https://doi.org/10.1016/J.STR.2011.10.017>
- Li, X., & Heyer, W. D. (2008). Homologous recombination in DNA repair and DNA damage tolerance. *Cell Research*, *18*(1), 99–113. <https://doi.org/10.1038/CR.2008.1>
- Lieber, M. R., Gu, J., Lu, H., Shimazaki, N., & Tsai, A. G. (2010). Nonhomologous DNA end joining (NHEJ) and chromosomal translocations in humans. *Sub-Cellular Biochemistry*, *50*, 279–296. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3471-7_14
- Lu, W., Zhang, Y., Liu, D., Songyang, Z., & Wan, M. (2013). Telomeres-structure, function, and regulation. *Experimental Cell Research*, *319*(2), 133–141. <https://doi.org/10.1016/J.YEXCR.2012.09.005>
- Martínez, P., & Blasco, M. A. (2017). Telomere-driven diseases and telomere-targeting therapies. *The Journal of Cell Biology*, *216*(4), 875–887. <https://doi.org/10.1083/JCB.201610111>

- McEachern, M. J. (2013). *Telomeres: Guardians of Genomic Integrity or Double Agents of Evolution?* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6483/>
- McKinley, K. L., & Cheeseman, I. M. (2016). The molecular basis for centromere identity and function. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, *17*(1), 16–29. <https://doi.org/10.1038/NRM.2015.5>
- Montero, J. J., López-Silanes, I., Megías, D., Fraga, M., Castells-García, Á., & Blasco, M. A. (2018). TERRA recruitment of polycomb to telomeres is essential for histone trimethylation marks at telomeric heterochromatin. *Nature Communications* *2018* *9*:1, *9*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03916-3>
- Moosavi, A., & Ardekani, A. M. (2016). Role of Epigenetics in Biology and Human Diseases. *Iranian Biomedical Journal*, *20*(5), 246–258. <https://doi.org/10.22045/IBJ.2016.01>
- Nannas, N. J., & Dawe, R. K. (2016). Live-Cell Imaging of Meiotic Spindle and Chromosome Dynamics in Maize (*Zea mays*). *Current Protocols in Plant Biology*, *14*, 546–565. <https://doi.org/10.1002/CPPB.20035>
- Nassar, R., Thompson, L., & Fouquerel, E. (2023). Molecular mechanisms protecting centromeres from self-sabotage and implications for cancer therapy. *NAR Cancer*, *5*(2). <https://doi.org/10.1093/NARCAN/ZCAD019>
- Nergadze, S. G., Piras, F. M., Gamba, R., Corbo, M., Cerutti, F., McCarter, J. G. W., Cappelletti, E., Gozzo, F., Harman, R. M., Antczak, D. F., Miller, D., Scharfe, M., Pavesi, G., Raimondi, E., Sullivan, K. F., & Giulotto, E. (2018). Birth, evolution, and transmission of satellite-free mammalian centromeric domains. *Genome Research*, *28*(6), 789–799. <https://doi.org/10.1101/GR.231159.1171-/DC1>
- O’Sullivan, R. J., & Karlseder, J. (2010). Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, *11*(3), 171–181. <https://doi.org/10.1038/NRM2848>
- Pal, S., & Tyler, J. K. (2016). Epigenetics and aging. *Science Advances*, *2*(7). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.1600584>
- Palm, W., & De Lange, T. (2008). How shelterin protects mammalian telomeres. *Annual Review of Genetics*, *42*, 301–334. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.GENET.41.110306.130350>
- Pinsky, B. A., & Biggins, S. (2005). The spindle checkpoint: tension versus attachment. *Trends in Cell Biology*, *15*(9), 486–493. <https://doi.org/10.1016/J.TCB.2005.07.005>
- Porika, M., Tippani, R., & Saretzki, G. C. (2022). CRISPR/Cas: A New Tool in the Research of Telomeres and Telomerase as Well as a Novel Form of Cancer Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(6). <https://doi.org/10.3390/IJMS23063002>

- Ranjan, R., & Chen, X. (2021). Super-Resolution Live Cell Imaging of Subcellular Structures. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, 2021(167), 1–13. <https://doi.org/10.3791/61563>
- Rošić, S., Köhler, F., & Erhardt, S. (2014). Repetitive centromeric satellite RNA is essential for kinetochore formation and cell division. *The Journal of Cell Biology*, 207(3), 335–349. <https://doi.org/10.1083/JCB.201404097>
- Sadeghi, L., Lee, S., Svensson, J. P., & Ekwall, K. (2014). Centromeric histone H2B monoubiquitination promotes noncoding transcription and chromatin integrity. *Nature Structural & Molecular Biology*, 21(3), 236–243. <https://doi.org/10.1038/NSMB.2776>
- Sampathi, S., & Chai, W. (2011). Telomere replication: poised but puzzling. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 15(1), 3–13. <https://doi.org/10.1111/J.1582-4934.2010.01220.X>
- Sansregret, L., Vanhaesebroeck, B., & Swanton, C. (2018). Determinants and clinical implications of chromosomal instability in cancer. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, 15(3), 139–150. <https://doi.org/10.1038/NRCLINONC.2017.198>
- Schueler, M. G., Higgins, A. W., Rudd, M. K., Gustashaw, K., & Willard, H. F. (2001). Genomic and genetic definition of a functional human centromere. *Science (New York, N.Y.)*, 294(5540), 109–115. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1065042>
- Scully, R., Panday, A., Elango, R., & Willis, N. A. (2019). DNA double-strand break repair-pathway choice in somatic mammalian cells. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 20(11), 698–714. <https://doi.org/10.1038/S41580-019-0152-0>
- Ségal-Bendirdjian, E., & Geli, V. (2019). Non-canonical Roles of Telomerase: Unraveling the Imbroglia. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2019.00332>
- Sfeir, A. (2012). Telomeres at a glance. *Journal of Cell Science*, 125(Pt 18), 4173–4178. <https://doi.org/10.1242/JCS.106831>
- Shang, W. H., Hori, T., Westhorpe, F. G., Godek, K. M., Toyoda, A., Misu, S., Monma, N., Ikeo, K., Carroll, C. W., Takami, Y., Fujiyama, A., Kimura, H., Straight, A. F., & Fukagawa, T. (2016). Acetylation of histone H4 lysine 5 and 12 is required for CENP-A deposition into centromeres. *Nature Communications*, 7. <https://doi.org/10.1038/NCOMMS13465>
- Shanower, G. A., Muller, M., Blanton, J. L., Honti, V., Gyurkovics, H., & Schedl, P. (2005). Characterization of the grappa gene, the *Drosophila* histone H3 lysine 79 methyltransferase. *Genetics*, 169(1), 173–184. <https://doi.org/10.1534/GENETICS.104.033191>
- Shay, J. W., & Wright, W. E. (2019). Telomeres and telomerase: three decades of progress. *Nature Reviews. Genetics*, 20(5), 299–309.

<https://doi.org/10.1038/S41576-019-0099-1>

- Song, S., & Johnson, F. B. (2018). Epigenetic Mechanisms Impacting Aging: A Focus on Histone Levels and Telomeres. *Genes*, *9*(4). <https://doi.org/10.3390/GENES9040201>
- Stewart, J. A., Chaiken, M. F., Wang, F., & Price, C. M. (2012). Maintaining the end: roles of telomere proteins in end-protection, telomere replication and length regulation. *Mutation Research*, *730*(1–2), 12–19. <https://doi.org/10.1016/J.MRFMMM.2011.08.011>
- Tsouroula, K., Furst, A., Rogier, M., Heyer, V., Maglott-Roth, A., Ferrand, A., Reina-San-Martin, B., & Soutoglou, E. (2016). Temporal and Spatial Uncoupling of DNA Double Strand Break Repair Pathways within Mammalian Heterochromatin. *Molecular Cell*, *63*(2), 293–305. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2016.06.002>
- Tubbs, A., & Nussenzweig, A. (2017). Endogenous DNA Damage as a Source of Genomic Instability in Cancer. *Cell*, *168*(4), 644–656. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2017.01.002>
- Turner, B. M. (1991). Histone acetylation and control of gene expression. *Journal of Cell Science*, *99* (Pt 1)(1), 13–20. <https://doi.org/10.1242/JCS.99.1.13>
- Van Nuland, R., & Gozani, O. (2016). Histone H4 Lysine 20 (H4K20) Methylation, Expanding the Signaling Potential of the Proteome One Methyl Moiety at a Time. *Molecular & Cellular Proteomics: MCP*, *15*(3), 755–764. <https://doi.org/10.1074/MCP.R115.054742>
- Vaquero-Sedas, M. I., & Vega-Palas, M. A. (2019). Assessing the Epigenetic Status of Human Telomeres. *Cells*, *8*(9). <https://doi.org/10.3390/CELLS8091050>
- Verdun, R. E., & Karlseder, J. (2007). Replication and protection of telomeres. *Nature*, *447*(7147), 924–931. <https://doi.org/10.1038/NATURE05976>
- Vitorelli, S., & Passos, J. F. (2017). Telomeres and Cell Senescence - Size Matters Not. *EBioMedicine*, *21*, 14–20. <https://doi.org/10.1016/J.EBIOM.2017.03.027>
- Vijg, J., & Suh, Y. (2013). Genome instability and aging. *Annual Review of Physiology*, *75*, 645–668. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-PHYSIOL-030212-183715>
- Volpe, T. A., Kidner, C., Hall, I. M., Teng, G., Grewal, S. I. S., & Martienssen, R. A. (2002). Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science (New York, N.Y.)*, *297*(5588), 1833–1837. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1074973>
- Wang, K., Liu, H., Hu, Q., Wang, L., Liu, J., Zheng, Z., Zhang, W., Ren, J., Zhu, F., & Liu, G. H. (2022). Epigenetic regulation of aging: implications for interventions of aging and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy* *2022* *7:1*, *7*(1), 1–22. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01211-8>
- Wang, Q., Liu, J. Q., Chen, Z., Zheng, K. W., Chen, C. Y., Hao, Y. H., & Tan, Z. (2011). G-

- quadruplex formation at the 3' end of telomere DNA inhibits its extension by telomerase, polymerase and unwinding by helicase. *Nucleic Acids Research*, *39*(14), 6229–6237. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKR164>
- Weitzman, M. D., & Fradet-Turcotte, A. (2018). Virus DNA Replication and the Host DNA Damage Response. *Annual Review of Virology*, *5*(1), 141–164. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-VIROLOGY-092917-043534>
- Westhorpe, F. G., & Straight, A. F. (2013). Functions of the centromere and kinetochore in chromosome segregation. *Current Opinion in Cell Biology*, *25*(3), 334–340. <https://doi.org/10.1016/J.CEB.2013.02.001>
- Westhorpe, F. G., & Straight, A. F. (2015). The Centromere: Epigenetic Control of Chromosome Segregation during Mitosis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *7*(1). <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A015818>
- Wright, W. D., Shah, S. S., & Heyer, W. D. (2018). Homologous recombination and the repair of DNA double-strand breaks. *The Journal of Biological Chemistry*, *293*(27), 10524–10535. <https://doi.org/10.1074/JBC.TM118.000372>
- Xin, H., Liu, D., & Songyang, Z. (2008). The telosome/shelterin complex and its functions. *Genome Biology*, *9*(9), 232. <https://doi.org/10.1186/GB-2008-9-9-232>
- Yu, J., Li, T., & Zhu, J. (2023). Gene Therapy Strategies Targeting Aging-Related Diseases. *Aging and Disease*, *14*(2), 0. <https://doi.org/10.14336/AD.2022.00725>
- Zhou, Z., Rajasingh, S., Barani, B., Samanta, S., Dawn, B., Wang, R., & Rajasingh, J. (2018). Therapy of Infectious Diseases Using Epigenetic Approaches. *Epigenetics in Human Disease*, 689–715. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812215-0.00022-4>
- Zhu, J., Zhao, Y., & Wang, S. (2010). Chromatin and epigenetic regulation of the telomerase reverse transcriptase gene. *Protein & Cell*, *1*(1), 22–32. <https://doi.org/10.1007/S13238-010-0014-1>

9. Elemente mobile

Sergiu Chira¹

¹Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Introducere

Elementele mobile reprezintă aproape jumătate din genomul uman, retrotranspozoni fiind cei mai proeminenți, reprezentând aproximativ 42% din genomul nostru. Genele săritoare, elementele mobile sau transpozoni descriși inițial sunt acum acceptați pe scară largă ca factori importanți ai evoluției genomului, fiind capabili să modifice structura și funcția genomului la mai multe niveluri. În timp ce activitatea transpozoniilor ADN în linia primatelor a subsistat în urmă cu aproximativ 37 de milioane de ani, transpozoniile ARN sau retrotranspozoniile sunt transcrise activ în genomul uman. Deși retrotranspozoniile contribuie la polimorfismul genetic în populația umană, activitatea lor în celulele liniei germinale și celulele somatice au fost asociate cu boli moștenite și, respectiv, dobândite. Pentru a eluda efectul genotoxic asupra genomului uman, celulele au dezvoltat diverse mecanisme pentru a-și limita mobilizarea, în principal prin reducerea la tăcere epigenetică. Demetilarea pe scară largă a genomului, un eveniment comun în transformarea malignă a celulelor, duce la reactivarea elementelor transpozabile, ceea ce contribuie în continuare la carcinogenază și progresia tumorii.

În secțiunile următoare, descriem clasificarea și caracteristicile structurale ale elementelor genetice mobile și mecanismul lor de mobilizare. Ulterior, subliniem efectul elementelor mobile asupra genomului uman și mecanismele prin care activitatea lor poate fi suprimată. În cele din urmă, subliniem implicarea reactivării elementelor transpozabile în malignitățile umane și mecanismele prin care transpozoniile pot contribui la carcinogenază.

9.1. Clasificarea și structura elementelor mobile

Elementele mobile sau transpozoniile au fost descoperite în 1940 de Barbara McClintock și descrise ca "gene săritoare" datorită capacității lor de a trece de la un locus genomic la altul (McClintock, 1956). Odată cu apariția secvențierii genomului uman (Venter et al., 2001), acum este recunoscut faptul că transpozoniile reprezintă aproximativ 45% din genomul nostru (Cordaux & Batzer, 2009). Pe baza mecanismului lor de mobilizare, transpozoniile sunt împărțiți în transpozoni de clasa I sau ARN și transpozoni de clasa 2 sau ADN (Figura 1). În timp ce ultimii sunt mobilizați printr-un

mecanism "cut-and-paste", ceea ce înseamnă că transpozorul ADN este excizat din locusul genomic de origine și inserat într-unul nou, transpozonii ARN sunt mobilizați printr-un mecanism "copy-and-paste", folosind un intermediar ARN, motiv pentru care sunt denumiți în mod obișnuit retrotranspozoni (Bourque et al., 2018).

Transposon classification	Structure	Copy number	% in HG	Evolutionary age
Class I Transposons - "copy and paste" mechanism				
Autonomous	LTR Retrotransposons <i>HERV-K</i> 	~ 203000	~ 8 %	~ 45 MYA
	Non-LTR Retrotransposons <i>LINE-1</i> 	~ 520000	~ 17 %	~ 170 MYA
Non-autonomous	Processed pseudogenes 	~ 8000-200000		~ 75 MYA
	Alu 	~ 1.1 mil.	~ 11 %	~ 65 MYA
	SVA 	~ 2800	~ 0.1 %	~ 18-20 MYA
Class II Transposons - "cut and paste" mechanism				
DNA Transposons	<i>TC1/Mariner</i> 	~ 100000	~ 3 %	~ 81-150 MYA

Figura 1. Clasificarea elementelor mobile. Pe baza mecanismului de mobilizare, elementele mobile sau elementele transpozabile sunt clasificate în clasa I sau retrotranspozoni care sunt mobilizați printr-un mecanism "copy and paste" și transpozonii din clasa II sau ADN care utilizează un mecanism de "tăiere și lipire" pentru mobilizare. Retrotranspozonii de clasa I sunt împărțiți în continuare în retrotranspozoni autonomi, care codifică factorii necesari pentru mobilizare, și retrotranspozoni neautonomi, care se bazează pe factorii codificați de retrotranspozonii autonomi pentru mobilizare. Retrotranspozonii autonomi includ repetările terminale lungi (LTR), cum ar fi retrovirusul endogen uman K (HERV-K) care seamănă cu retrovirusurile în structură, și retrotranspozonii non-LTR cu elementul nuclear lung intercalat 1 (LINE-1) fiind cel mai reprezentativ. Retrotranspozonii non-LTR neautonomi cuprind pseudogenele prelucrate și elementele Alu și SVA. Aceste tipuri de retrotranspozoni prezintă semnele distinctive ale transpunerii LINE-1, și anume coada poli(A) n și duplicările site-ului țintă (TSD) la ambele capete. Elementele transpozoniilor ADN din clasa II, cum ar fi TC1/Mariner, codifică gena transpozazei, două repetări inversate (ITR), iar structura este flancată de două repetări directe (DR). Sunt indicate numărul și procentul de copii din genomul uman (HG) și vârsta evolutivă pentru fiecare tip de elemente mobile. Promotorii (P) retrotranspozoniilor autonomi sunt reprezentați ca săgeți

îndoite. PBS – locul de legare a grundului; gag – poliproteină capsidă; PRT – protează; pol – polimerază; RT – domeniul reverstranscriptazei; EN – domeniul endonucleazei; env – plic; Δ ~270 bp – ștergerea a aproximativ 270 bp; PPT – tract polipurine; pA – semnal de poliadenilare; UTR – regiune netradusă; ORF – cadru de lectură deschis; C – domeniu bogat în cisteină; VNTR – repetări în tandem cu număr variabil; SINE – elemente nucleare scurte intercalate; ADNc – ADN complementar; MYA - milioane de ani în urmă

Clasa ADN a transpozoniilor este subreprezentată în comparație cu retrotranspozoniile, reprezentând aproximativ 3% din genomul uman (Cordaux și Batzer, 2009) și în număr de peste 100 000 de exemplare (Smit & Riggs, 1996). De obicei, se mobilizează printr-un mecanism "cut-and-paste", însă au fost identificate alte mecanisme (Feschotte & Pritham, 2007). Un transpozon ADN tipic aparținând subclasei "cut-and-paste" este Tc1/Mariner, care este alcătuit din două TIR (Terminal Inverted Repeats) și un singur ORF (Open Reading Frame) care codifică transpozaza. Întregul transpozon este flancat de două DR (repetări directe) care sunt generate la inserarea în noul locus genomic (Plasterk et al., 1999). Transpozaza codificată prezintă două domenii, domeniul de legare a ADN-ului cu motivul Helix-Turn-Helix, semnalul de localizare nucleară (NLS) și domeniul catalitic cu motive DDE sau DDD (Muñoz-López & García-Pérez, 2010).

Restul de 42% din elementele mobile din genomul uman sunt ocupate de clasa retrotranspozoniilor, care trece de la un locus genomic la unul nou de către un ARN intermediar. Această clasă de transpozoni este împărțită în continuare în retrotranspozoni LTR (Long Terminal Repeats) și retrotranspozoni non-LTR (Cordaux & Batzer, 2009) (Bourque et al., 2018). Denumite virusuri "fosile", retrotranspozoniile LTR amintesc de o infecție ancestrală cu retrovirus în linia germinală, deoarece seamănă structural cu retrovirusurile, deși nu mai sunt infecțioase. Retrotranspozoniile retrotranspozoniilor Human Endogenous Retro-Virus (HERV) cuprind aproximativ 8% din genomul uman (Cordaux & Batzer, 2009), familia HERV-K fiind cea mai activă din linia umană (Barbulescu et al., 1999; Medstrand & Mager, 1998; Turner et al., 2001). Acestea sunt încă transcrise activ în țesuturile hormonale și receptive, cum ar fi placenta, hipotalamusul și testiculul (Crowell & Kiessling, 2007; Kim et al., 2004). HERV-K10, un provirus tipic HERV-K, are o lungime de aproximativ 9,2 kb cu o structură LTR-gag-prt-pol-env-LTR și conține o ștergere de 270 pb în regiunea limită dintre ORF-urile pol și env (Figura 1) (Ono et al., 1986).

Printre retrotranspozoniile autonomi non-LTR, elementele mobile L1 sunt cele mai reprezentative dintre elementele nucleare intercalate lungi (LINE), cu aproximativ 520.000 de elemente și ocupând 17% din genomul uman (Cordaux & Batzer, 2009; Ostertag & Kazazian, 2001). Lungimea completă L1 are o lungime de aproximativ 6 kb, cu două ORF-uri în cadru închise de regiunile netranslate (UTR) de 5' și 3', care conțin

secvența promotorului polimerazei II și, respectiv, semnalul de poliadenilare, urmat de o coadă poli(A). Întreaga structură este flancată de două TSD-uri, care sunt generate în timpul integrării L1 în genom (Figura 1) (Ostertag & Kazazian, 2001). Deși funcția proteinei ORF1 nu este pe deplin înțeleasă (Martin & Bushman, 2001; Martin et al., 2005), activitatea catalitică a retrotranspozozonilor L1 este codificată de proteina ORF2, care este compusă din 3 domenii, domeniul bogat în cisteină (C) de legare a ARN-ului L1, domeniul endonucleazei (EN) care generează rupturi duble catenară la situsul țintă consensual TTAAAA și domeniul revers-transcriptazei (RT) care a transcris ARN-ul L1 în ADN printr-un mecanism dependent de primer (Feng et al., 1996; Mathias et al., 1991; Moran et al., 1996; Ostertag & Kazazian, 2001).

Pseudogenele prelucrate prezintă probabil cea mai simplă structură a retrotranspozozonilor non-LTR neautonomi, cuprinzând o secvență complementară de ADN (ADNc) (exoni genici) și o coadă poli(A), închisă de două TSD (Figura 1). Această structură canonică poate prezenta și trunchieri de 5' (Zhang et al., 2003). Mobilizarea lor se bazează pe proteinele retrotranspozante codificate L1 (Esnault et al., 2000), a considerat o rată mult mai mică comparativ cu L1 (Wei et al., 2001).

Elementele nucleare scurte intercalate (SINE) sunt secvențe non-codificatoare de aproximativ 80-400 bp lungime care conțin un promotor intern ARN Pol III. O porțiune de patru sau mai multe T situate aleatoriu în aval de element este utilizată ca terminator de transcriere (Dewannieux & Heidmann, 2005). Dintre familiile SINE, familia Alu este cea mai reprezentativă în genomul uman, numărând mai mult de 1,1 milioane de elemente, care reprezintă aproximativ 11% din genomul nostru (Cordaux & Batzer, 2009). Structura elementelor Alu cuprinde doi monomeri derivați din ARN 7SL (monomerul stâng și monomerul drept), conectați printr-o secvență bogată A și terminându-se într-o coadă poli(A) și flancați de două TSD-uri (Figura 1) (Quentin, 1992). Cei doi monomeri adoptă o structură secundară, care facilitează SRP9/14 (heterodimer de particule de recunoaștere a semnalului 9/14), o proteină citosolică care este implicată în translocarea și integrarea în membrana reticulului endoplasmatic a proteinelor nou sintetizate la locul ribozomilor (Bennett et al., 2008; Mills et al., 2007).

Cea mai tânără familie de retrotranspozoni non-autonomi non-LTR este reprezentată de elementele compozite SVA (SINE-VNTR-Alu), care au apărut acum 18-25 milioane de ani, înainte de divergența primatelor hominide de maimuțele din lumea veche. Până la 2800 de copii au fost identificate în genomul uman, reprezentând aproximativ 0,1% din genomul nostru (Hancks & Kazazian, 2010; Wang et al., 2005). Retrotranspozozonul SVA de lungime completă, care este de aproximativ 2 kb, cuprinde o repetare hexameră CCCTCT, o regiune derivată din Alu antisens, regiunea VNTR (repetări în tandem cu număr variabil) și regiunea SINE-R care este derivată din anvelopă și secvențele LTR 3' ale HERV-K10. SVA se termină într-o coadă de poli(A) și

întreaga structură este închisă de două TSD-uri (figura 1) (Kobayashi et al., 1998; Wang et al., 2005). Deși nu au fost identificați promotori interni care conduc transcrierea SVA (Hancks et al., 2009), se crede că secvențele interne de îmbunătățire (Hancks & Kazazian, 2010) împreună cu secvențele promotorului polimerazei II din amonte (Damert et al., 2009) ar putea fi responsabil pentru reglementarea transcrierii SVA. Ca și în cazul altor retrotranspozoni non-LTR neautonomi, mobilizarea SVA se bazează pe proteinele L1 ORF1 și ORF2 (Raiz et al., 2012).

9.2. Mecanismul de transpunere a elementelor mobile

Mobilizarea transpozoniilor prezintă unele diferențe, în funcție de clasa și familia afiliată. După cum s-a menționat mai sus, transpozoniile din clasa II utilizează un mecanism "cut-and-paste", care este mediat de transpozaza codificată care leagă ITR-urile și se creează o buclă prin dimerizarea a doi monomeri transpozazei (Figura 2A). Domeniul endonucleazei catalizează o ruptură dublă a catenei (DSB), iar elementul este eliberat din locusul său sursă, lăsând o urmă de transpozon. Complexul de transpunere vizează dinucleotida TA, unde generează un DSB și se introduce transpozonul ADN (Ivics & Izsvak, 2015; Muñoz-López & García-Pérez, 2010). Puține studii au identificat secvențe la capătul 5' al transpozazei cu o funcție promotoare (Palazzo et al., 2019; Walisko et al., 2008).

Retrotranspozoniile LTR au un mecanism de mobilizare care seamănă cu ciclul de viață al retrovirusurilor, datorită asemănărilor lor structurale și funcționale, începând cu transcrierea ARN-ului retrotranspozon de la promotorul PolII localizat în LTR 5' și terminând cu LTR 3' unde se află semnalul de poliadenilare. În citoplasmă, ARN-ul intermediar împreună cu proteinele Gag (componente structurale) și Pol (funcție catalitică) translatate formează o particulă asemănătoare virusului, unde are loc transcrierea inversă la o copie ADNc. Domeniul integrazii poliproteinei Pol mediază integrarea retrotranspozoniilor LTR într-un nou sit genomic (Figura 2B) (Havecker et al., 2004).

Pentru retrotranspozoniile autonomi non-LTR, cum ar fi L1, mobilizarea este inițiată prin transcrierea de la promotorul său endogen Pol II situat în 5' UTR și se termină la semnalul de poliadenilare în 3' UTR. Transcriptul poliadenilat L1 este exportat în citoplasmă unde este tradus în proteinele ORF1 și ORF2, care leagă ARN-ul L1 decât le codifică (*Cs1*-mobilizare) și asamblare în RNP L1 (Figura 2A) (Boeke, 1997) (Doucet et al., 2010; Wei et al., 2001). Mecanismul prin care RNP-ul L1 intră în nucleu rămâne evaziv, deși se crede că este dependent energetic (Kubo et al., 2006) sau poate accesa genomul în timpul defalcării nucleare a diviziunii celulare (Ostertag și Kazazian, 2001).

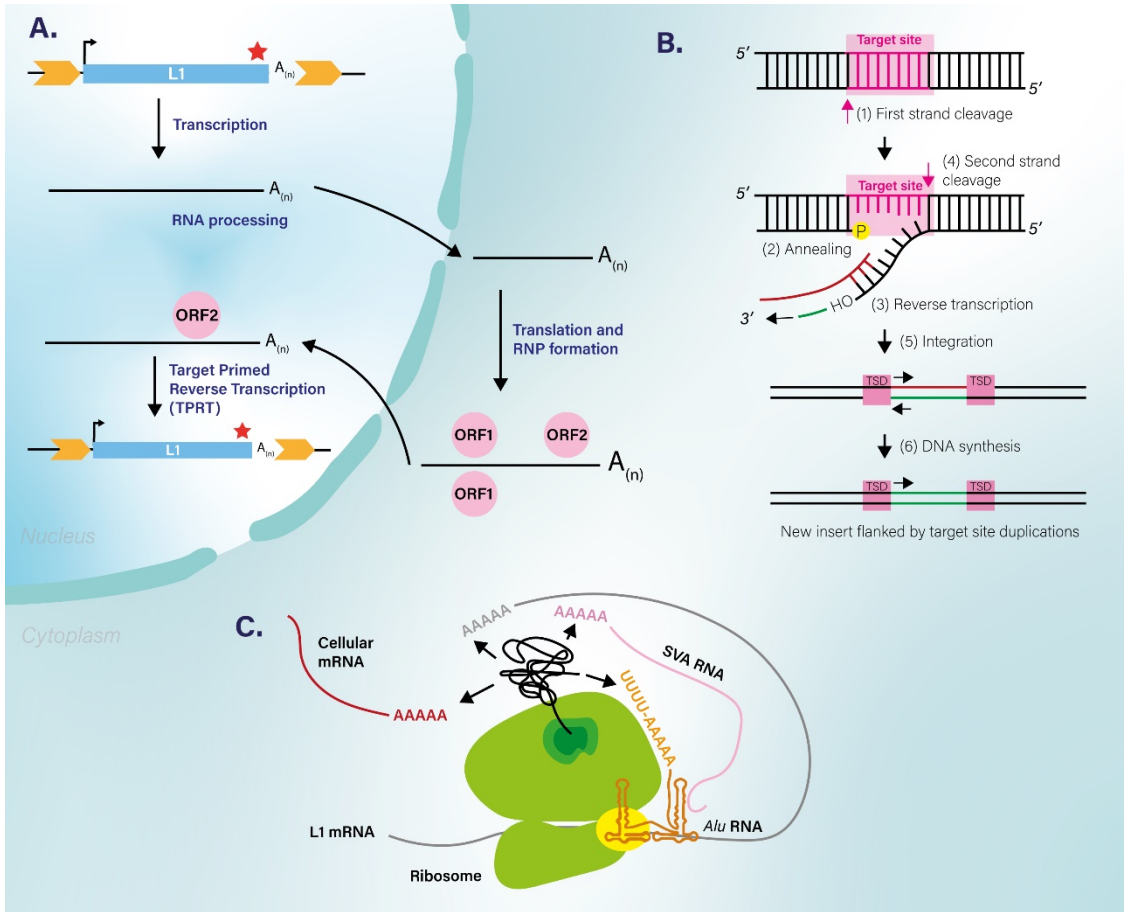


Figura 2. Mecanismul de mobilizare a retrotranspozoniilor non-LTR. (A) Ciclul de viață al retrotranspozoniului LINE (L1). Elementul L1 este transcris din locația sa genomică de către un promotor endogen (săgeată îndoită). Transcrierea este poliadenilată în aval de semnalul poli(A) (asterisc), iar transcrierea rezultată este exportată în citoplasmă, unde proteinele ORF1 și ORF2 traduse interacționează cu ARN-ul care le-a codificat (preferința cis). O proteină ORF2 și una sau mai multe proteine ORF1 se asamblează într-un complex de ribonucleoproteină (RNP), un intermediar în procesul de retrotranspunere. Atât proteina ORF2, cât și ARN-ul L1 trebuie să aibă acces în nucleu, unde ARN-ul L1 este transcris invers și integrat într-o nouă locație genomică, printr-un proces numit transcriere inversă amorșată țintă (TPRT). Noi duplicări ale sitului țintă (TSD) (capete de săgeată galbene) de lungime variabilă sunt create la locul de inserție. (B) Reprezentarea schematică a etapelor implicate în TPRT. (1) Clivajul principal al sitului țintă de către endonucleaza L1 (EN); (2) Recoacerea ARN-ului L1 prin capătul său 3' până la nick-ul din situl țintă; (3) Transcrierea inversă este inițiată de reverstrascriptaza L1 (RT) la gruparea hidroxil 3' a catenei site-țintă; (4) Clivajul celei de-a doua catene a sitului țintă; (5) ADN-ul L1 este integrat în ruptura catenei duble; (6) Îndepărtarea ARN-ului L1 și finalizarea sintezei ADN. Două TSD-uri sunt create la locul de inserție. (C) Model de transmobilizare pentru retrotranspozoni neautonomi. Transmobilizarea Alu implică andocarea ARN-ului Al (linia roșie) la ribozom, în apropierea proteinelor L1 în curs de formare, deturnându-le astfel. Andocarea la ribozom este mediată de structura secundară a ARN-ului Alu care facilitează legarea monomerului stâng de heterodimerul SRP9/14 (oval galben). SVA s-ar putea

hibridiza prin regiunea sa asemănătoare Alu într-un ARN Al activ, aducând ARN-ul său (linia portocalie) în apropierea proteinelor L1. ARN-ul mesager celular (linia neagră) este considerat a fi un substrat slab pentru mobilizare, deoarece nu este localizat la ribozom unde sunt traduse proteinele L1. Săgețile negre indică interacțiunea proteinelor L1 cu diferite substraturi ARN.

O copie a elementului L1 este inserată în noua locație genomică printr-un proces numit Target Primed Reverse Transcription (TPRT), în care domeniul EN al ORF2 creează o poreclă a primei catene la secvența de consens AATTTT, care este utilizată ca primer pentru a iniția transcrierea inversă de către domeniul RT al ORF2. După sinteza celei de-a doua catene, se generează o a doua creștătură, iar elementul L1 este inserat în noul locus genomic și flankat de noile TSD (figura 2B) (Feng et al., 1996; Mathias et al., 1991; Ostertag & Kazazian, 2001). Retrotranspozonii non-LTR non-autonomi, cum ar fi pseudogenele prelucrate, Alu și SVA, se bazează pe acest mecanism de mobilizare. Cu toate acestea, eficiența mobilizării pentru pseudogenele procesate este de aproximativ 0,01 până la 0,05% din capacitatea de retrotranspunere L1 (Mills et al., 2007). În schimb, retrotranspozonii Alu au fost capabili să depășească numărul tuturor retrotranspozonilor din genomul uman (Cordaux & Batzer, 2009), indicând faptul că Alu poate ocoli *Csi*-preferința retrotranspozonilor L1 pentru a favoriza propria mobilizare. Acest eveniment este îmbunătățit prin andocarea la ribozom prin interacțiunea cu heterodimerul SRP9/14 datorită structurii secundare Alu, aducând propriul ARN în apropierea proteinelor L1 în curs de formare, deturnând mașinăria de retrotranspunere (Mills et al., 2007). În mod similar, retrotranspozonii SVA sunt *trans*-mobilizat de proteinele codificate L1, deși cu o eficiență mai scăzută (Hancks et al., 2011; Raiz et al., 2012), prin hibridizarea la un Alu activ cu regiunea antisens Alu a SVA (Figura 2C) (Mills et al., 2007). Cu toate acestea, secvențele Alu transduse de lungime completă au fost sugerate pentru a spori eficiența mobilizării SVA, oferind aceeași structură secundară pentru legarea SRP9/14 (Damert et al., 2009; Raiz et al., 2012) (Raiz et al., 2012).

9.3. Efectele transpozozomilor asupra genomului uman și reglarea epigenetică a acestora

Ocupând 45% din genomul uman, nu există nicio îndoială că elementele mobile au modelat genomul de-a lungul evoluției primatelor (Cordaux & Batzer, 2009; Mita & Boeke, 2016; Tang et al., 2018) și conduc la polimorfism genetic și variabilitate în rândul populațiilor umane (Kojima et al., 2023).

Mecanismele prin care retrotranspozonii pot modula structura și funcția genomului uman sunt diferite. În primul rând, clasa autonomă de retrotranspozoni,

datorită capacității lor de codificare pentru revers-transcriptază, este capabilă să transpună secvențe de codificare ARNm, ducând la formarea de pseudogene prelucrate (Esnault et al., 2000). Aceste pseudogene se pot insera în alte regiuni de codificare ale genomului, un proces care poate duce la noi gene cu caracteristici noi de transcripție (Baertsch et al., 2008; Kubiak et al., 2020; Maestre et al., 1995). Atât retrotranspozonii autonomi LTR, cât și cei non-LTR posedă activitate endonucleazică care poate genera DSB, ceea ce ar putea duce la rearanjare genomică și instabilitate genomică (Gasior et al., 2006; So et al., 2017). Pe lângă endonucleaza codificată și reverstranscriptaza, raportul *Cs1*-secvențele endogene cu acțiuni, cum ar fi promotorii, potențatorii, situsurile criptice de îmbinare, semnalele de poliadenilare, pot modula sau modifica expresia genică și procesarea ARNm celular (Sundaram și Wysocka, 2020) și, în cele din urmă, conduc la diverse boli, atât moștenite, cât și dobândite, cum ar fi cancerul (tabelul 1) (Belancio et al., 2009; Chen et al., 2005).

Retrotranspozonii L1 și SVA sunt capabili să co-mobilizeze secvențe genomice în amonte sau în aval, de la un locus genomic la altul prin evenimente de transducție de 5' și 3'. Astfel de evenimente pot fi mediate prin transcrierea de la promotorii celulari din amonte sau prin evenimente de îmbinare (Damert et al., 2009; Lavie et al., 2004), ultima fiind cunoscută și sub numele de capcanarea exonilor, când retrotranspozonul este inserat într-o regiune intronică a unei gene pe catena plus (Hancks et al., 2009), rezultând transducții de 5'. Cu toate acestea, transducțiile 5' sunt mai puțin frecvente, ca majoritatea L1 (Szak et al., 2002) și, probabil, și elemente SVA (Damert et al., 2009) sunt trunchiate la capătul lor de 5'. În schimb, evenimentele de transducție 3' sunt mai frecvente și apar din ocolirea transcripțională a semnalului endogen de poliadenilare și utilizarea unui semnal în aval (Halabian și Makalowski, 2022), co-mobilizând în unele cazuri gene întregi, cum ar fi gena AMAC1 (enzima de condensare acril-malonil 1) de către un element SVA (Xing et al., 2006). Captarea exonilor prin retrotranspozoni, numită și "exonizare", a fost raportată în elementele Alu prin utilizarea site-urilor criptice de îmbinare în cadrul retrotranspozonului, adăugând potențial noi secvențe de codare în transcrierea rezultată, care ar putea dobândi în continuare noi caracteristici funcționale (Chen et al., 2017; Krull et al., 2005).

Tabelul 1. Boli umane legate de retrotranspozoni.

Retro-transpozon	Inserare Locus ¹	Cromozomi	Boalți	Coplați numărul în Genomul uman	Vârsta evolutivă
Alu	F8	X	Hemofilia B	1.100.0002	~65 MYA4
	F9	X	Hemofilia A		
	CLCN5	X	Boala lui Dent		

	BTK	X	X-legate de agammaglobulinemie		
	IL2RG	X	Imunodeficiență combinată severă legată de X		
	GK	X	Deficitul de glicerol kinază		
	ABCD1	X	Adrenoleucodistrofia		
	ATP7A	X	Boala Menkes		
	CD40LG	X	Sindromul hiper-imunoglobulinei M		
	CRB1	1	Deficitul de antitrombină de tip 1		
	SERPINC1	1	Sindromul Muckle-Wells		
	ZEB2	2	Cancer colorectal ereditar non-polipozic		
	MSH2	2	Hipercalcemie hipocalciurică și hiperparatiroidism		
	CASR	3	Deficitul de colinesterază		
	BCHE	3	Aplazie anterioară		
	HESX1	3	Asociat cu leucemie		
	MLVI2	5	Boala desmoidă ereditară		
	APC	5	Anemie hemolitică cronică		
	NT5C3	7	Fibroza chistică		
	CFTR	7	Sindromul Branchio-oto-renal		
	EYA1	8	Deficitul de lipoproteinlipază		
	LPL	8	Sindromul CHARGE		
	CHD7	8	Sindromul Walker Warburg		
	POMT1	9	Sindromul limfoproliferativ autoimun		
	FAS	10	Sindromul Apert		
	FGFR2	10	Completează		
	SERPINC1	10	Porfirie acută intermitentă		
	HMSB	11	Schimbarea evolutivă specifică omului		
	CMAS	11	Mucopolidoza de tip II		
	MLVI2	12	Cancer mamar		
	BRCA2	12	Cancer mamar		
	BRCA1	12	Neurofibromatoza		
	NF1	17			
L1	CHM	X	coroideremie	520.0002	~170 MYA5
	CYBB	X	Boala granulomatoasă cronică		
	DMD	X	Distrofia musculară Duchenne legată de X		
	F8	X	Hemofilia A		
	F9	X	Hemofilie B		
	RP2	X	Pigmentoză rară legată de X		
	RPS6KA3	X	Sindromul Coffin-Lowry		
	APC	5	Cancerul de colon		
	FKTN	9	Distrofia musculară congenitală de tip		

	HBB PDHX	11 11	Fukuyama Beta-talasemie Deficiență de complex piruvat dehidrogenază		
SVA	BTK	X	X-legate de agammaglobulinemie	2.8003	~18-25 MYA3
	LDLRAP1	1	Hipercolesterolemie autozomal recesivă		
	SPTA1	1	Eliptocitoza ereditară și piropoikilocitoza ereditară		
	FKTN	9	Distrofia musculară congenitală de tip Fukuyama		

¹(Belancio et al., 2009; Belancio et al., 2008) și trimerile din acestea; ²(Cordaux și Batzer, 2009); ³(Wang et al., 2005); ⁴(Batzer și Deininger, 2002); ⁵(Khan et al., 2006); MYA- acum milioane de ani

Pentru a limita efectele dăunătoare asociate cu activitatea retrotranspozoniilor, celulele au dezvoltat mecanisme de contracarare a potențialului lor mutagen, dintre care reducerea la tăcere epigenetică este cea mai predominantă (Figura 3). Restricția activității retrotranspozoniilor prin reglarea epigenetică poate fi realizată la nivelul ADN-ului și cromatinei. Metilarea reziduurilor de citozină este mediată de ADN metiltransferaza (DNMT) și duce la recrutarea proteinelor de legare a metilului, un proces care interferează cu factorii transcripționali care accesează regiunile reglatoare, împiedicând astfel expresia genelor (Jones, 2012). Majoritatea regiunilor metilate din genomul uman sunt situate în interiorul elementelor mobile (Jansz, 2019), sugerând că metilarea ADN-ului este un mecanism cheie de apărare a celulelor pentru a restricționa efectele genotoxice ale transpozoniilor. O astfel de ipoteză este susținută în continuare de studii funcționale în care s-a constatat că deficitul de DNMT în celulele cultivate este asociat cu o creștere a activității de retrotranspunere (Walsh et al., 1998). În plus, modificarea organizării cromatinei reprezintă un alt mecanism prin care elementele genetice mobile pot fi reglate la nivel transcripțional, prin restrângerea accesului factorilor de transcripție la locurile transpozoniului. Trimetilarea reziduurilor de lizină 9 și 27 ale histonei 3 (H3K9me3 și H3K27me3) sunt semne distinctive ale heterocromatinei supresive și asociate cu reducerea la tăcere a elementelor transpozabile (Consortiu, 2012; Walter et al., 2016). Pentru H3K9me3, acest proces este mediat de histon metiltransferaza SRTDB1 specifică H3 și de co-represorul său The Kruppel Associated Box (KRAB) Associated Protein 1 (KAP1 sau TRIM28) pentru reducerea la tăcere a retrovirusurilor endogene (Elsasser et al., 2015; Rowe et al., 2010). În plus, KAP1 se poate asocia cu Human Silencing Hub (HUSH) pentru a reprimă activitatea transpozoniului L1 prin metilarea H3K9 (Robbez-Masson et al., 2018; Seczynska et al., 2022), care este, de asemenea, o țintă pentru proteina homolog 3-9 (Suv39h) în reglarea retrotranspozoniilor L1 și LTR (Bulut-Karslioglu et al., 2014).

Trimetilarea lizinei 27 a histonei 3 (H3K27me3) este catalizată de complexul policomb-represiv 2 (PRC2) care acționează împreună cu PRC1 pentru a media în continuare ubiquitinarea histonei H2A, reprimând transcripția retrovirusurilor endogene (Leeb et al., 2010). Prin urmare, activitatea elementelor transpozonice pare să fie reglată de heterocromatinizarea supresivă a locilor genomici care adăpostesc inserții de transpozoni (Figura 3). O întrebare care ar putea apărea din astfel de evenimente este ce determină de fapt modificările histonelor în aceste regiuni, din atât de multe posibilități. Răspunsul ar putea fi legat de activitatea endonucleazei codificată de retrotranspozonii autonomi, care generează DSB în genom, necesitând factori de răspuns la deteriorarea ADN-ului, cum ar fi proteina supresoare tumorală p53. 5' UTR al elementelor L1 s-au dovedit a fi o țintă directă pentru legarea p53, iar analiza ulterioară a arătat că secvențele promotorului L1 au prezentat semnele distinctive H3K9me3 și H3K27me3 ale silențierii epigenetice, care au fost reduse semnificativ în absența p53 (Tiwari et al., 2020). Aceste rezultate sugerează că la legarea p53 de regiunea L1 5' UTR, sunt recrutate metiltransferaze histone, iar locusul L1 este reprimat prin heterocromatinizare. Cu toate acestea, spre deosebire de aceste constatări, studii mai recente care s-au concentrat asupra activității transcripționale a retrovirusurilor endogene umane, au arătat că 5' LTR conține două situsuri de legare pentru p53, care reglează expresia transcripției HERV, deoarece un nivel scăzut de p53 diminuează activitatea promotorului 5' LTR (Liu et al., 2022). De ce represiunea L1 și activarea HERV sunt mediate de același factor, și anume p53, rămâne o întrebare deschisă. Poate că diferențele în activitatea de mobilizare dintre L1 și HERV ar putea explica într-o oarecare măsură reducerea la tăcere a L1, deoarece această retrotranspozon non-LTR prezintă o rată crescută de retrotranspunere în genomul uman comparativ cu HERV (Mills et al., 2007). Sau contextul secvenței la care p53 leagă L1 5' UTR și HERV 5' LTR ar putea avea o influență asupra funcției p53.

Pe lângă proteina p53, 5' UTR al retrotranspozoniilor L1 par să fie vizați și de familia proteinelor de buzunar E2F-Rb (E2F-retinoblasoma), care recrutează histone deacetilaze (HDAC) la promotorul L1, rezultând deacetilarea histonelor H3 și heterocromatinizarea locusului retrotranspozon. Mai mult, în celulele cu deficit de Rb, promotorul L1 prezintă niveluri scăzute, dar nu ADN ablat și semne de metilare a histonei, sugerând că Rb ar putea ajuta la recrutarea CpG și histone metiltransferazei, dar aceste modificări epigenetice nu depind de Rb (Montoya-Durango et al., 2009). Aceste constatări sunt susținute în continuare de alte studii care indică faptul că reducerea la tăcere a L1 este mediată de Rb prin recrutarea complexului nucleozomial și remodelant deacetilază (NuRD), care constă din histonă și ADN metiltransferază în plus față de HDAC (Montoya-Durango et al., 2016).

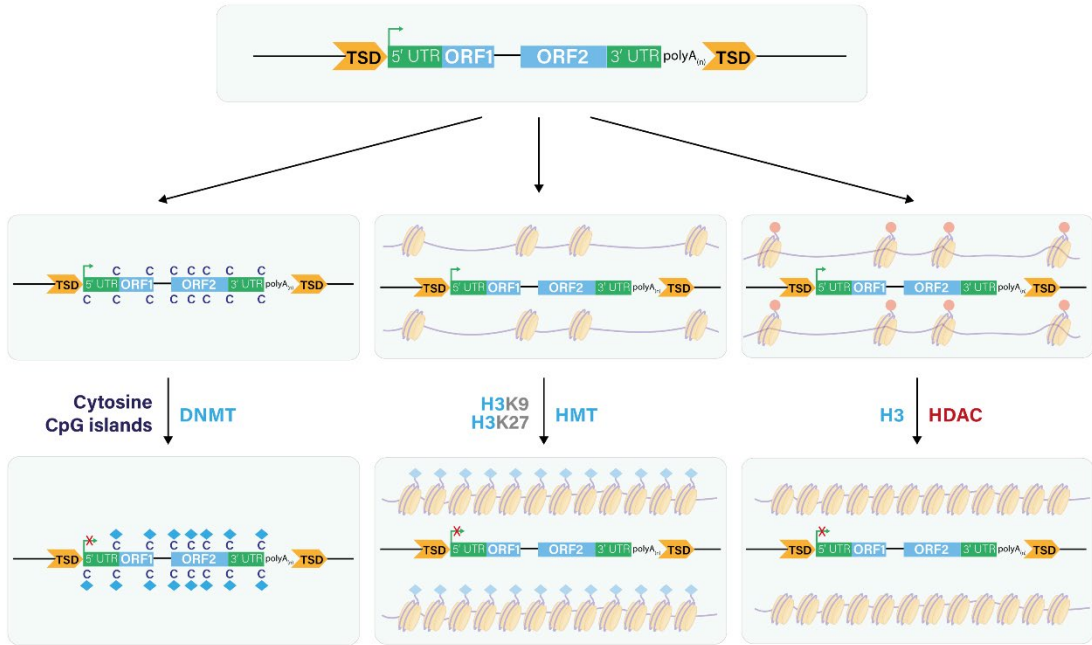


Figura 3. Mecanisme de reglare epigenetică a retrotranspozoniilor. Metilarea (mici pătrate albastre) a reziduurilor de cisteină (C) sau a insulelor CpG în structura retrotranspozoniului mediat de ADN metiltransferază (DNMT) face promotorul (săgeata îndoită) inaccesibil factorilor de transcripție (X roșu), rezultând reprimarea transcripției. Un alt mecanism de reducere la tăcere a transcripției retrotranspozoniului este histon metiltransferaza mediată (HMT) care adaugă grupări metil la lizina 9 sau 27 a histonei 3 (H3K3 și H3K27), ceea ce duce la heterocromatinizarea retrotranspozoniului. În mod similar, îndepărtarea reziduurilor de acetil (cercuri portocalii mici) formează histonea H3 de către histonă deacetilază (HDAC) inversează structura cromatinei dintr-o stare relaxată în structura mai compactă și inaccesibilă a heterocromatinei, rezultând reprimarea transcripției retrotranspozoniului.

9.4. Dereglarea epigenetică a elementelor transpozabile în cancer

După cum sa menționat mai sus, celulele au adoptat mecanisme epigenetice pentru a menține un control strict al activității transpozoniilor, un proces care este, de asemenea, asociat cu un grad mai larg de heterocromatinizare a secvențelor genomice adiacente, cu consecințe potențiale asupra expresiei genelor (Liu et al., 2018; Slotkin & Martienssen, 2007). Hipometilarea globală s-a dovedit a fi însoțită de o stabilitate genomică crescută, care seamănă cu peisajul epigenetic al genomului tumoral (Besselink et al., 2023). Într-adevăr, hipometilarea indusă prin distrugerea DNMT-urilor în celule are ca rezultat inițierea tumorii, atât în vitro, cât și în vivo (Eden et al., 2003; Gaudet et al., 2003; Sheaffer et al., 2016). Deoarece retrotranspozoniile sunt reglați în principal de mecanisme epigenetice, hipometilarea la scara genomului duce, de asemenea, la dereprimarea transpozoniilor potențial activi (Daskalos et al., 2009),

ceea ce duce la creșterea instabilității genomului (Daskalos et al., 2009) și, în plus, în rearanjarea cromozomilor (Zhang et al., 2011). Într-adevăr, s-a stabilit o corelație pozitivă între nivelul scăzut de metilare al retrotranspozoniilor L1 și prognosticul slab la pacienții cu cancer gastric (Kim et al., 2019; Shigaki et al., 2013; Song et al., 2016), carcinom hepatocelular (Harada et al., 2015), cancer pancreatic (Yamamura et al., 2017) și carcinom cu celule scuamoase esofagiene (Casarotto et al., 2022; Iwagami et al., 2013). Chiar mai mult, nivelurile scăzute de metilare L1 au fost, de asemenea, asociate cu creșterea limfocitelor infiltrate tumorale CD3 în cancerul gastric (Kim et al., 2020). Hipometilarea retrotranspozoniilor L1 și Alu pare să fie specifică și pentru leucemia limfocitară cronică (LLC) și se asociază cu expresia diferențială a genelor din apropiere (Barrow et al., 2021). Aceste constatări nu sunt surprinzătoare, deoarece s-a demonstrat printr-o analiză cu randament ridicat a țesuturilor tumorale derivate din 15 subtipuri patologice de cancer, că L1 poate conduce la reglarea ascendentă a 106 oncogene prin activitatea sa promotoare endogenă (Jang et al., 2019).

Ca *TP53* Gena suferă mutații pe scară largă într-o gamă largă de afecțiuni maligne umane (Olivier et al., 2010), iar proteina p53 este un regulator cheie al transpozoniilor L1 prin medierea metilării promotorului L1 și heterocromatinizării (Tiwari et al., 2020), *TP53*-tumorile mutante prezintă un risc crescut de reactivare a L1. Analiza țesuturilor tumorale derivate de la pacienții cu cancer gastric avansat a evidențiat o corelație pozitivă între *TP53* statusul mutațional și hipometilarea L1 și asociate în continuare cu parametrii clinicopatologici, cum ar fi vârsta, sexul, invazia și diferențierea tumorii, printre altele (Shin et al., 2019). Această observație este susținută în continuare de o analiză mai cuprinzătoare a datelor multiomice derivate din cancerul de sân, cancerul ovarian, cancerul de colon, rinichii cu celule clare și cancerul endometrial, care a constatat *TP53*-tumorile mutante pentru a prezenta niveluri mai ridicate de expresie L1 (McKerrow et al., 2022).

Prin urmare, hipometilarea și activarea ulterioară a retrotranspozoniilor pot promova carcinogeneza într-o gamă diversă de cancere umane și este adesea asociată cu un prognostic slab. În plus, proteina supresoare tumorală p53 este un regulator important al activității transpozoniilor, iar statutul său mutațional în numeroase malignități poate spori instabilitatea genomică legată de elementele transpozabile.

Concluziile

În primul rând, descrise ca gene săritoare sau ADN rezidual, elementele mobile sunt acum acceptate pe scară largă ca motoare ale evoluției care au modelat și extins genomul primatelor. Deși, pe lângă efectul lor benefic, transpozoniile sunt, de asemenea, considerați factori genetici mutageni puternici, care pot modifica expresia normală a

genelor prin diverse mecanisme, cum ar fi recombinarea și translocația direcționată omologic, activarea regiunilor vecine altfel inactive ale genomului, îmbinarea alternativă a transcrierilor celulare, interferând cu căile de semnalizare datorită proteinelor transpozonice codificate sau prin potențialul de mutagenезă inserțională. În mod inerent, celulele au evoluat, de asemenea, mecanisme pentru a limita efectele dăunătoare ale elementelor transpozabile, în principal prin reducerea la tăcere epigenetică, și anume metilarea ADN-ului și / sau a histonei și deacetilarea histonei. Cu toate acestea, în condiții patologice, cum ar fi cancerul, atunci când transpozonii reușesc să scape de controlul strict al expresiei lor datorită hipometilării pe scară largă, aceste elemente mobile sunt capabile să conducă carcinogeneza și progresia tumorii, iar nivelul lor ridicat de activitate a fost asociat cu rezultate slabe la pacienții cu cancer.

Bibliografie

- Baertsch, R., Diekhans, M., Kent, W. J., Haussler, D., & Brosius, J. (2008). Retrocopy contributions to the evolution of the human genome. *BMC Genomics*, *9*, 466. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-466>
- Barbulescu, M., Turner, G., Seaman, M. I., Deinard, A. S., Kidd, K. K., & Lenz, J. (1999). Many human endogenous retrovirus K (HERV-K) proviruses are unique to humans. *Curr Biol*, *9*(16), 861-868. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(99\)80390-x](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(99)80390-x)
- Barrow, T. M., Wong Doo, N., Milne, R. L., Giles, G. G., Willmore, E., Strathdee, G., & Byun, H. M. (2021). Analysis of retrotransposon subfamily DNA methylation reveals novel early epigenetic changes in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*, *106*(1), 98-110. <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.228478>
- Batzler, M. A., & Deininger, P. L. (2002). Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet*, *3*(5), 370-379. <https://doi.org/10.1038/nrg798>
- Belancio, V. P., Deininger, P. L., & Roy-Engel, A. M. (2009). LINE dancing in the human genome: transposable elements and disease. *Genome Med*, *1*(10), 97. <https://doi.org/10.1186/gm97>
- Belancio, V. P., Hedges, D. J., & Deininger, P. (2008). Mammalian non-LTR retrotransposons: for better or worse, in sickness and in health. *Genome Res*, *18*(3), 343-358. <https://doi.org/10.1101/gr.5558208>
- Bennett, E. A., Keller, H., Mills, R. E., Schmidt, S., Moran, J. V., Weichenrieder, O., & Devine, S. E. (2008). Active Alu retrotransposons in the human genome. *Genome Res*, *18*(12), 1875-1883. <https://doi.org/10.1101/gr.081737.108>
- Besselink, N., Keijer, J., Vermeulen, C., Boymans, S., de Ridder, J., van Hoeck, A., Cuppen, E., & Kuijk, E. (2023). The genome-wide mutational consequences of DNA

- hypomethylation. *Sci Rep*, 13(1), 6874. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33932-3>
- Boeke, J. D. (1997). LINEs and Alus--the polyA connection. *Nat Genet*, 16(1), 6-7. <https://doi.org/10.1038/ng0597-6>
- Bourque, G., Burns, K. H., Gehring, M., Gorbunova, V., Seluanov, A., Hammell, M., Imbeault, M., Izsvak, Z., Levin, H. L., Macfarlan, T. S., Mager, D. L., & Feschotte, C. (2018). Ten things you should know about transposable elements. *Genome Biol*, 19(1), 199. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1577-z>
- Bulut-Karslioglu, A., De La Rosa-Velazquez, I. A., Ramirez, F., Barenboim, M., Onishi-Seebacher, M., Arand, J., Galan, C., Winter, G. E., Engist, B., Gerle, B., O'Sullivan, R. J., Martens, J. H., Walter, J., Manke, T., Lachner, M., & Jenuwein, T. (2014). Suv39h-dependent H3K9me3 marks intact retrotransposons and silences LINE elements in mouse embryonic stem cells. *Mol Cell*, 55(2), 277-290. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.05.029>
- Casarotto, M., Lupato, V., Giurato, G., Guerrieri, R., Sulfaro, S., Salvati, A., D'Angelo, E., Furlan, C., Menegaldo, A., Baboci, L., Montico, B., Turturici, I., Dolcetti, R., Romeo, S., Baggio, V., Corrado, S., Businello, G., Guido, M., Weisz, A., . . . Fratta, E. (2022). LINE-1 hypomethylation is associated with poor outcomes in locoregionally advanced oropharyngeal cancer. *Clin Epigenetics*, 14(1), 171. <https://doi.org/10.1186/s13148-022-01386-5>
- Chen, H., Chen, L., Wu, Y., Shen, H., Yang, G., & Deng, C. (2017). The Exonization and Functionalization of an Alu-J Element in the Protein Coding Region of Glycoprotein Hormone Alpha Gene Represent a Novel Mechanism to the Evolution of Hemochorial Placentation in Primates. *Mol Biol Evol*, 34(12), 3216-3231. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx252>
- Chen, J. M., Stenson, P. D., Cooper, D. N., & Ferec, C. (2005). A systematic analysis of LINE-1 endonuclease-dependent retrotranspositional events causing human genetic disease. *Hum Genet*, 117(5), 411-427. <https://doi.org/10.1007/s00439-005-1321-0>
- Consortium, E. P. (2012). An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*, 489(7414), 57-74. <https://doi.org/10.1038/nature11247>
- Cordaux, R., & Batzer, M. A. (2009). The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nat Rev Genet*, 10(10), 691-703. <https://doi.org/10.1038/nrg2640>
- Crowell, R. C., & Kiessling, A. A. (2007). Endogenous retrovirus expression in testis and epididymis. *Biochem Soc Trans*, 35(Pt 3), 629-633. <https://doi.org/10.1042/BST0350629>
- Damert, A., Raiz, J., Horn, A. V., Lower, J., Wang, H., Xing, J., Batzer, M. A., Lower, R., & Schumann, G. G. (2009). 5'-Transducing SVA retrotransposon groups spread

- efficiently throughout the human genome. *Genome Res*, 19(11), 1992-2008. <https://doi.org/10.1101/gr.093435.109>
- Daskalos, A., Nikolaidis, G., Xinarianos, G., Savvari, P., Cassidy, A., Zakopoulou, R., Kotsinas, A., Gorgoulis, V., Field, J. K., & Liloglou, T. (2009). Hypomethylation of retrotransposable elements correlates with genomic instability in non-small cell lung cancer. *Int J Cancer*, 124(1), 81-87. <https://doi.org/10.1002/ijc.23849>
- Dewannieux, M., & Heidmann, T. (2005). LINEs, SINEs and processed pseudogenes: parasitic strategies for genome modeling. *Cytogenet Genome Res*, 110(1-4), 35-48. <https://doi.org/10.1159/000084936>
- Doucet, A. J., Hulme, A. E., Sahinovic, E., Kulpa, D. A., Moldovan, J. B., Kopera, H. C., Athanikar, J. N., Hasnaoui, M., Bucheton, A., Moran, J. V., & Gilbert, N. (2010). Characterization of LINE-1 ribonucleoprotein particles. *PLoS Genet*, 6(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001150>
- Eden, A., Gaudet, F., Waghmare, A., & Jaenisch, R. (2003). Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation. *Science*, 300(5618), 455. <https://doi.org/10.1126/science.1083557>
- Elsasser, S. J., Noh, K. M., Diaz, N., Allis, C. D., & Banaszynski, L. A. (2015). Histone H3.3 is required for endogenous retroviral element silencing in embryonic stem cells. *Nature*, 522(7555), 240-244. <https://doi.org/10.1038/nature14345>
- Esnault, C., Maestre, J., & Heidmann, T. (2000). Human LINE retrotransposons generate processed pseudogenes. *Nat Genet*, 24(4), 363-367. <https://doi.org/10.1038/74184>
- Feng, Q., Moran, J. V., Kazazian, H. H., Jr., & Boeke, J. D. (1996). Human L1 retrotransposon encodes a conserved endonuclease required for retrotransposition. *Cell*, 87(5), 905-916. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81997-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81997-2)
- Feschotte, C., & Pritham, E. J. (2007). DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes. *Annu Rev Genet*, 41, 331-368. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.40.110405.090448>
- Gasior, S. L., Wakeman, T. P., Xu, B., & Deininger, P. L. (2006). The human LINE-1 retrotransposon creates DNA double-strand breaks. *J Mol Biol*, 357(5), 1383-1393. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.01.089>
- Gaudet, F., Hodgson, J. G., Eden, A., Jackson-Grusby, L., Dausman, J., Gray, J. W., Leonhardt, H., & Jaenisch, R. (2003). Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation. *Science*, 300(5618), 489-492. <https://doi.org/10.1126/science.1083558>
- Halabian, R., & Makalowski, W. (2022). A Map of 3' DNA Transduction Variants Mediated by Non-LTR Retroelements on 3202 Human Genomes. *Biology (Basel)*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/biology11071032>

- Hancks, D. C., Ewing, A. D., Chen, J. E., Tokunaga, K., & Kazazian, H. H., Jr. (2009). Exon-trapping mediated by the human retrotransposon SVA. *Genome Res*, *19*(11), 1983-1991. <https://doi.org/10.1101/gr.093153.109>
- Hancks, D. C., Goodier, J. L., Mandal, P. K., Cheung, L. E., & Kazazian, H. H., Jr. (2011). Retrotransposition of marked SVA elements by human L1s in cultured cells. *Hum Mol Genet*, *20*(17), 3386-3400. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr245>
- Hancks, D. C., & Kazazian, H. H., Jr. (2010). SVA retrotransposons: Evolution and genetic instability. *Semin Cancer Biol*, *20*(4), 234-245. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2010.04.001>
- Harada, K., Baba, Y., Ishimoto, T., Chikamoto, A., Kosumi, K., Hayashi, H., Nitta, H., Hashimoto, D., Beppu, T., & Baba, H. (2015). LINE-1 methylation level and patient prognosis in a database of 208 hepatocellular carcinomas. *Ann Surg Oncol*, *22*(4), 1280-1287. <https://doi.org/10.1245/s10434-014-4134-3>
- Havecker, E. R., Gao, X., & Voytas, D. F. (2004). The diversity of LTR retrotransposons. *Genome Biol*, *5*(6), 225. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-6-225>
- Ivics, Z., & Izsvak, Z. (2015). Sleeping Beauty Transposition. *Microbiol Spectr*, *3*(2), MDNA3-0042-2014. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0042-2014>
- Iwagami, S., Baba, Y., Watanabe, M., Shigaki, H., Miyake, K., Ishimoto, T., Iwatsuki, M., Sakamaki, K., Ohashi, Y., & Baba, H. (2013). LINE-1 hypomethylation is associated with a poor prognosis among patients with curatively resected esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg*, *257*(3), 449-455. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31826d8602>
- Jang, H. S., Shah, N. M., Du, A. Y., Dailey, Z. Z., Pehrsson, E. C., Godoy, P. M., Zhang, D., Li, D., Xing, X., Kim, S., O'Donnell, D., Gordon, J. I., & Wang, T. (2019). Transposable elements drive widespread expression of oncogenes in human cancers. *Nat Genet*, *51*(4), 611-617. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0373-3>
- Jansz, N. (2019). DNA methylation dynamics at transposable elements in mammals. *Essays Biochem*, *63*(6), 677-689. <https://doi.org/10.1042/EBC20190039>
- Jones, P. A. (2012). Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet*, *13*(7), 484-492. <https://doi.org/10.1038/nrg3230>
- Khan, H., Smit, A., & Boissinot, S. (2006). Molecular evolution and tempo of amplification of human LINE-1 retrotransposons since the origin of primates. *Genome Res*, *16*(1), 78-87. <https://doi.org/10.1101/gr.4001406>
- Kim, T. H., Jeon, Y. J., Yi, J. M., Kim, D. S., Huh, J. W., Hur, C. G., & Kim, H. S. (2004). The distribution and expression of HERV families in the human genome. *Mol Cells*, *18*(1), 87-93. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15359128>

- Kim, Y., Rhee, Y. Y., Wen, X., Cho, N. Y., Bae, J. M., Kim, W. H., & Kang, G. H. (2020). Combination of L1 methylation and tumor-infiltrating lymphocytes as prognostic marker in advanced gastric cancer. *Gastric Cancer*, *23*(3), 464-472. <https://doi.org/10.1007/s10120-019-01025-8>
- Kim, Y., Wen, X., Jeong, S., Cho, N. Y., Kim, W. H., & Kang, G. H. (2019). Combinatory low methylation statuses of SAT-alpha and L1 are associated with shortened survival time in patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer*, *22*(1), 37-47. <https://doi.org/10.1007/s10120-018-0852-8>
- Kobayashi, K., Nakahori, Y., Miyake, M., Matsumura, K., Kondo-lida, E., Nomura, Y., Segawa, M., Yoshioka, M., Saito, K., Osawa, M., Hamano, K., Sakakihara, Y., Nonaka, I., Nakagome, Y., Kanazawa, I., Nakamura, Y., Tokunaga, K., & Toda, T. (1998). An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature*, *394*(6691), 388-392. <https://doi.org/10.1038/28653>
- Kojima, S., Koyama, S., Ka, M., Saito, Y., Parrish, E. H., Endo, M., Takata, S., Mizukoshi, M., Hikino, K., Takeda, A., Gelinas, A. F., Heaton, S. M., Koide, R., Kamada, A. J., Noguchi, M., Hamada, M., Biobank Japan Project, C., Kamatani, Y., Murakawa, Y., . . . Parrish, N. F. (2023). Mobile element variation contributes to population-specific genome diversification, gene regulation and disease risk. *Nat Genet*, *55*(6), 939-951. <https://doi.org/10.1038/s41588-023-01390-2>
- Krull, M., Brosius, J., & Schmitz, J. (2005). Alu-SINE exonization: en route to protein-coding function. *Mol Biol Evol*, *22*(8), 1702-1711. <https://doi.org/10.1093/molbev/msi164>
- Kubiak, M. R., Szczesniak, M. W., & Makalowska, I. (2020). Complex Analysis of Retroposed Genes' Contribution to Human Genome, Proteome and Transcriptome. *Genes (Basel)*, *11*(5). <https://doi.org/10.3390/genes11050542>
- Kubo, S., Seleme, M. C., Soifer, H. S., Perez, J. L., Moran, J. V., Kazazian, H. H., Jr., & Kasahara, N. (2006). L1 retrotransposition in nondividing and primary human somatic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *103*(21), 8036-8041. <https://doi.org/10.1073/pnas.0601954103>
- Lavie, L., Maldener, E., Brouha, B., Meese, E. U., & Mayer, J. (2004). The human L1 promoter: variable transcription initiation sites and a major impact of upstream flanking sequence on promoter activity. *Genome Res*, *14*(11), 2253-2260. <https://doi.org/10.1101/gr.2745804>
- Leeb, M., Pasini, D., Novatchkova, M., Jaritz, M., Helin, K., & Wutz, A. (2010). Polycomb complexes act redundantly to repress genomic repeats and genes. *Genes Dev*, *24*(3), 265-276. <https://doi.org/10.1101/gad.544410>
- Liu, M., Jia, L., Li, H., Liu, Y., Han, J., Wang, X., Li, T., Li, J., Zhang, B., Zhai, X., Yu, C., & Li, L. (2022). p53 Binding Sites in Long Terminal Repeat 5Hs (LTR5Hs) of Human

Endogenous Retrovirus K Family (HML-2 Subgroup) Play Important Roles in the Regulation of LTR5Hs Transcriptional Activity. *Microbiol Spectr*, 10(4), e0048522. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00485-22>

- Liu, N., Lee, C. H., Swigut, T., Grow, E., Gu, B., Bassik, M. C., & Wysocka, J. (2018). Selective silencing of euchromatic L1s revealed by genome-wide screens for L1 regulators. *Nature*, 553(7687), 228-232. <https://doi.org/10.1038/nature25179>
- Maestre, J., Tchenio, T., Dhellin, O., & Heidmann, T. (1995). mRNA retroposition in human cells: processed pseudogene formation. *EMBO J*, 14(24), 6333-6338. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb00324.x>
- Martin, S. L., & Bushman, F. D. (2001). Nucleic acid chaperone activity of the ORF1 protein from the mouse LINE-1 retrotransposon. *Mol Cell Biol*, 21(2), 467-475. <https://doi.org/10.1128/MCB.21.2.467-475.2001>
- Martin, S. L., Cruceanu, M., Branciforte, D., Wai-Lun Li, P., Kwok, S. C., Hodges, R. S., & Williams, M. C. (2005). LINE-1 retrotransposition requires the nucleic acid chaperone activity of the ORF1 protein. *J Mol Biol*, 348(3), 549-561. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.03.003>
- Mathias, S. L., Scott, A. F., Kazazian, H. H., Jr., Boeke, J. D., & Gabriel, A. (1991). Reverse transcriptase encoded by a human transposable element. *Science*, 254(5039), 1808-1810. <https://doi.org/10.1126/science.1722352>
- McClintock, B. (1956). Controlling elements and the gene. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 21, 197-216. <https://doi.org/10.1101/sqb.1956.021.01.017>
- McKerrow, W., Wang, X., Mendez-Dorantes, C., Mita, P., Cao, S., Grivainis, M., Ding, L., LaCava, J., Burns, K. H., Boeke, J. D., & Fenyo, D. (2022). LINE-1 expression in cancer correlates with p53 mutation, copy number alteration, and S phase checkpoint. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 119(8). <https://doi.org/10.1073/pnas.2115999119>
- Medstrand, P., & Mager, D. L. (1998). Human-specific integrations of the HERV-K endogenous retrovirus family. *J Virol*, 72(12), 9782-9787. <https://doi.org/10.1128/JVI.72.12.9782-9787.1998>
- Mills, R. E., Bennett, E. A., Iskow, R. C., & Devine, S. E. (2007). Which transposable elements are active in the human genome? *Trends Genet*, 23(4), 183-191. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2007.02.006>
- Mita, P., & Boeke, J. D. (2016). How retrotransposons shape genome regulation. *Curr Opin Genet Dev*, 37, 90-100. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2016.01.001>
- Montoya-Durango, D. E., Liu, Y., Teneng, I., Kalbfleisch, T., Lacy, M. E., Steffen, M. C., & Ramos, K. S. (2009). Epigenetic control of mammalian LINE-1 retrotransposon by retinoblastoma proteins. *Mutat Res*, 665(1-2), 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.02.011>

- Montoya-Durango, D. E., Ramos, K. A., Bojang, P., Ruiz, L., Ramos, I. N., & Ramos, K. S. (2016). LINE-1 silencing by retinoblastoma proteins is effected through the nucleosomal and remodeling deacetylase multiprotein complex. *BMC Cancer*, *16*, 38. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2068-9>
- Moran, J. V., Holmes, S. E., Naas, T. P., DeBerardinis, R. J., Boeke, J. D., & Kazazian, H. H., Jr. (1996). High frequency retrotransposition in cultured mammalian cells. *Cell*, *87*(5), 917-927. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81998-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81998-4)
- Munoz-Lopez, M., & Garcia-Perez, J. L. (2010). DNA transposons: nature and applications in genomics. *Curr Genomics*, *11*(2), 115-128. <https://doi.org/10.2174/138920210790886871>
- Olivier, M., Hollstein, M., & Hainaut, P. (2010). TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, *2*(1), a001008. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001008>
- Ono, M., Yasunaga, T., Miyata, T., & Ushikubo, H. (1986). Nucleotide sequence of human endogenous retrovirus genome related to the mouse mammary tumor virus genome. *J Virol*, *60*(2), 589-598. <https://doi.org/10.1128/JVI.60.2.589-598.1986>
- Ostertag, E. M., & Kazazian, H. H., Jr. (2001). Biology of mammalian L1 retrotransposons. *Annu Rev Genet*, *35*, 501-538. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.35.102401.091032>
- Palazzo, A., Lorusso, P., Miskey, C., Walisko, O., Gerbino, A., Marobbio, C. M. T., Ivics, Z., & Marsano, R. M. (2019). Transcriptionally promiscuous "blurry" promoters in Tc1/mariner transposons allow transcription in distantly related genomes. *Mob DNA*, *10*, 13. <https://doi.org/10.1186/s13100-019-0155-6>
- Plasterk, R. H., Izsvak, Z., & Ivics, Z. (1999). Resident aliens: the Tc1/mariner superfamily of transposable elements. *Trends Genet*, *15*(8), 326-332. [https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(99\)01777-1](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(99)01777-1)
- Quentin, Y. (1992). Origin of the Alu family: a family of Alu-like monomers gave birth to the left and the right arms of the Alu elements. *Nucleic Acids Res*, *20*(13), 3397-3401. <https://doi.org/10.1093/nar/20.13.3397>
- Raiz, J., Damert, A., Chira, S., Held, U., Klawitter, S., Hamdorf, M., Lower, J., Stratling, W. H., Lower, R., & Schumann, G. G. (2012). The non-autonomous retrotransposon SVA is trans-mobilized by the human LINE-1 protein machinery. *Nucleic Acids Res*, *40*(4), 1666-1683. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr863>
- Robbez-Masson, L., Tie, C. H. C., Conde, L., Tunbak, H., Husovsky, C., Tchasovnikarova, I. A., Timms, R. T., Herrero, J., Lehner, P. J., & Rowe, H. M. (2018). The HUSH complex cooperates with TRIM28 to repress young retrotransposons and new genes. *Genome Res*, *28*(6), 836-845. <https://doi.org/10.1101/gr.228171.117>

- Rowe, H. M., Jakobsson, J., Mesnard, D., Rougemont, J., Reynard, S., Aktas, T., Maillard, P. V., Layard-Liesching, H., Verp, S., Marquis, J., Spitz, F., Constam, D. B., & Trono, D. (2010). KAP1 controls endogenous retroviruses in embryonic stem cells. *Nature*, *463*(7278), 237-240. <https://doi.org/10.1038/nature08674>
- Seczynska, M., Bloor, S., Cuesta, S. M., & Lehner, P. J. (2022). Genome surveillance by HUSH-mediated silencing of intronless mobile elements. *Nature*, *601*(7893), 440-445. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04228-1>
- Sheaffer, K. L., Elliott, E. N., & Kaestner, K. H. (2016). DNA Hypomethylation Contributes to Genomic Instability and Intestinal Cancer Initiation. *Cancer Prev Res (Phila)*, *9*(7), 534-546. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-15-0349>
- Shigaki, H., Baba, Y., Watanabe, M., Murata, A., Iwagami, S., Miyake, K., Ishimoto, T., Iwatsuki, M., & Baba, H. (2013). LINE-1 hypomethylation in gastric cancer, detected by bisulfite pyrosequencing, is associated with poor prognosis. *Gastric Cancer*, *16*(4), 480-487. <https://doi.org/10.1007/s10120-012-0209-7>
- Shin, Y. J., Kim, Y., Wen, X., Cho, N. Y., Lee, S., Kim, W. H., & Kang, G. H. (2019). Prognostic implications and interaction of L1 methylation and p53 expression statuses in advanced gastric cancer. *Clin Epigenetics*, *11*(1), 77. <https://doi.org/10.1186/s13148-019-0661-x>
- Slotkin, R. K., & Martienssen, R. (2007). Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nat Rev Genet*, *8*(4), 272-285. <https://doi.org/10.1038/nrg2072>
- Smit, A. F., & Riggs, A. D. (1996). Tiggers and DNA transposon fossils in the human genome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *93*(4), 1443-1448. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.4.1443>
- So, A., Le Guen, T., Lopez, B. S., & Guirouilh-Barbat, J. (2017). Genomic rearrangements induced by unscheduled DNA double strand breaks in somatic mammalian cells. *FEBS J*, *284*(15), 2324-2344. <https://doi.org/10.1111/febs.14053>
- Song, Y. S., Kim, Y., Cho, N. Y., Yang, H. K., Kim, W. H., & Kang, G. H. (2016). Methylation status of long interspersed element-1 in advanced gastric cancer and its prognostic implication. *Gastric Cancer*, *19*(1), 98-106. <https://doi.org/10.1007/s10120-015-0463-6>
- Sundaram, V., & Wysocka, J. (2020). Transposable elements as a potent source of diverse cis-regulatory sequences in mammalian genomes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, *375*(1795), 20190347. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0347>
- Szak, S. T., Pickeral, O. K., Makalowski, W., Boguski, M. S., Landsman, D., & Boeke, J. D. (2002). Molecular archeology of L1 insertions in the human genome. *Genome Biol*, *3*(10), research0052. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-10-research0052>

- Tang, W., Mun, S., Joshi, A., Han, K., & Liang, P. (2018). Mobile elements contribute to the uniqueness of human genome with 15,000 human-specific insertions and 14 Mbp sequence increase. *DNA Res*, *25*(5), 521-533. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsy022>
- Tiwari, B., Jones, A. E., Caillet, C. J., Das, S., Royer, S. K., & Abrams, J. M. (2020). p53 directly represses human LINE1 transposons. *Genes Dev*, *34*(21-22), 1439-1451. <https://doi.org/10.1101/gad.343186.120>
- Turner, G., Barbulescu, M., Su, M., Jensen-Seaman, M. I., Kidd, K. K., & Lenz, J. (2001). Insertional polymorphisms of full-length endogenous retroviruses in humans. *Curr Biol*, *11*(19), 1531-1535. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(01\)00455-9](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(01)00455-9)
- Venter, J. C., Adams, M. D., Myers, E. W., Li, P. W., Mural, R. J., Sutton, G. G., Smith, H. O., Yandell, M., Evans, C. A., Holt, R. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P., Ballew, R. M., Huson, D. H., Wortman, J. R., Zhang, Q., Kodira, C. D., Zheng, X. H., Chen, L., . . . Zhu, X. (2001). The sequence of the human genome. *Science*, *291*(5507), 1304-1351. <https://doi.org/10.1126/science.1058040>
- Walisko, O., Schorn, A., Rolf, F., Devaraj, A., Miskey, C., Izsvak, Z., & Ivics, Z. (2008). Transcriptional activities of the Sleeping Beauty transposon and shielding its genetic cargo with insulators. *Mol Ther*, *16*(2), 359-369. <https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300366>
- Walsh, C. P., Chaillet, J. R., & Bestor, T. H. (1998). Transcription of IAP endogenous retroviruses is constrained by cytosine methylation. *Nat Genet*, *20*(2), 116-117. <https://doi.org/10.1038/2413>
- Walter, M., Teissandier, A., Perez-Palacios, R., & Bourc'his, D. (2016). An epigenetic switch ensures transposon repression upon dynamic loss of DNA methylation in embryonic stem cells. *Elife*, *5*. <https://doi.org/10.7554/eLife.11418>
- Wang, H., Xing, J., Grover, D., Hedges, D. J., Han, K., Walker, J. A., & Batzer, M. A. (2005). SVA elements: a hominid-specific retroposon family. *J Mol Biol*, *354*(4), 994-1007. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.09.085>
- Wei, W., Gilbert, N., Ooi, S. L., Lawler, J. F., Ostertag, E. M., Kazazian, H. H., Boeke, J. D., & Moran, J. V. (2001). Human L1 retrotransposition: cis preference versus trans complementation. *Mol Cell Biol*, *21*(4), 1429-1439. <https://doi.org/10.1128/MCB.21.4.1429-1439.2001>
- Xing, J., Wang, H., Belancio, V. P., Cordaux, R., Deininger, P. L., & Batzer, M. A. (2006). Emergence of primate genes by retrotransposon-mediated sequence transduction. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *103*(47), 17608-17613. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603224103>
- Yamamura, K., Kosumi, K., Baba, Y., Harada, K., Gao, F., Zhang, X., Zhou, L., Kitano, Y., Arima, K., Kaida, T., Takeyama, H., Higashi, T., Imai, K., Hashimoto, D., Chikamoto,

- A., Tan, X., & Baba, H. (2017). LINE-1 methylation level and prognosis in pancreas cancer: pyrosequencing technology and literature review. *Surg Today*, *47*(12), 1450-1459. <https://doi.org/10.1007/s00595-017-1539-1>
- Zhang, J., Yu, C., Krishnaswamy, L., & Peterson, T. (2011). Transposable elements as catalysts for chromosome rearrangements. *Methods Mol Biol*, *701*, 315-326. https://doi.org/10.1007/978-1-61737-957-4_18
- Zhang, Z., Harrison, P. M., Liu, Y., & Gerstein, M. (2003). Millions of years of evolution preserved: a comprehensive catalog of the processed pseudogenes in the human genome. *Genome Res*, *13*(12), 2541-2558. <https://doi.org/10.1101/gr.1429003>

10. Genomul și ARN-ul non-codificator în aplicațiile clinice și inovațiile tehnologice

Alexandru Tirpe^{1,2}

¹Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, România

²Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Str. Victor Babeș nr. 8, 400012 Cluj-Napoca, România

Introducere

În trecut, ADN-ul non-codificator era considerat ca fiind lipsit de importanță. Cu toate acestea, trecerea timpului și evoluția tehnologiei a ajutat la înțelegerea faptului că ARN-omul non-codificator este implicat în modularea a numeroase procese fiziopatologice în majoritatea patologiilor. Genomul non-codificator este format din ADN non-codificator, care nu este transcris în proteine, ci în ARN non-codificator funcțional activ, precum și în transcripturi inactivate (Pagni, Mills, Frankish, Mudge, & Sisodiya, 2022). Întrucât ARN-ul non-codificator a fost în mare măsură categorizat și discutat în capitolele anterioare, acest capitol se va concentra asupra potențialului lor de utilizare în context real world, și, mai exact, asupra utilizării terapeutice clinice a microARN-urilor. Așa cum era de așteptat, prezentul capitol va discuta perspectivele lor clinice centrat pe o patologie - sau mai degrabă pe un grup de patologii - cancerul, dar luând în considerare și alte patologii. În cancer, microARN-urile sunt implicate în acțiunea de silencing a oncogenelor și a supresoarelor tumorale, precum și a diverși factori intermediari, influențând astfel gradul de agresivitate și progresia cancerului.

Luând în considerare o abordare centrată pe ideea de translație, există o nevoie esențială de a transfera descoperirile obținute în context preclinic from bench to bedside, deoarece obiectivul final al medicinei translaționale este ca pacientul să beneficieze de cele mai recente descoperiri în înțelegerea și abordarea patologiei de care este afectat. Având acest lucru în vedere, microARN-urile și-au început lent drumul spre aplicații clinice și inovație în tehnologia medicală - de la prognostic la predictiv și de la diagnostic la terapeutic. Prezentul capitol se va concentra pe capacitățile terapeutice ale microARN-urilor.

10.1. ARN-urile non-codificatoare – potențiali agenți terapeutici

În ultimii ani, eforturile de dezvoltare a terapiilor bazate pe ARN s-au concentrat preponderent pe oligonucleotidele antisens și siARN-uri. În consecință, mai multe astfel de medicamente au fost aprobate cu succes de agențiile de reglementare din domeniu (FDA/EMA), dar niciunul cu aplicabilitate în cazul cancerului. Terapiile pe bază ARN aprobate de EMA includ Lumasiran, Inclisiran, Givosiran pentru hiperoxalurie

primară de tip 1, respectiv hipercolesterolemie familială și respectiv porfirie hepatică acută, precum și mai multe ASO, cum ar fi Golodirsen pentru distrofia musculară Duchenne. Există un număr de ASO și siARN care sunt aflate în studii clinice de fază II și fază III, precum și terapii mai noi precum anti-miARN și miARN mimics (Winkle, El-Daly, Fabbri, & Calin, 2021). Aceste terapii acționează la nivel genic, influențând mai multe gene în comparație cu ASO. Este esențial de menționat că miARN-urile funcționează fie ca supresoare tumorale, fie ca oncogene (Zhang, Pan, Cobb, & Anderson, 2007).

Datorită activității lor duale, miARN-urile pot acționa atât ca agenți terapeutici, cât și ca ținte terapeutice (Rupaimoole & Slack, 2017), marcând astfel rolul lor versatil în patologii. După cum s-a menționat anterior, miARN-urile pot fi folosite fie ca miARN mimics pentru a înlocui miARN-ul supresor tumoral endogen subexprimat, fie pentru a deconecta și subexprima miARN-urile oncogene de la căile lor de semnalizare pro-oncogene (Wang, Han, Sun, Chen, & Chen, 2019). Primul studiu clinic ce a implicat miARN-uri ca agenți terapeutici a debutat în 2013 și a folosit un mimetic de miR-34a într-un sistem de livrare lipozomal (Reid et al., 2016).

10.2. Trialuri clinice curente/ microARN-uri investigate în trialuri clinice

Un număr de microARN-uri au fost investigate în trialuri clinice, cu rezultate heterogene. Tabelul 1 prezintă o selecție de astfel de microARN-uri. Până la momentul actual, niciun microARN nu a fost aprobat de către FDA/EMA pentru uz terapeutic și nicio terapie bazată pe microARN nu s-a aflat în studii clinice de fază III.

Tabelul 1. Terapii bazate pe microARN-uri implicate în studiile clinice

Medicamentu	microARN implicat	Patologia	Trial clinic – fază	Tipul agentului terapeutic	Administrare	NCTid	Referințe
TargomiRs	miR-15/16mimic	NSCLC mezoteliom pleural malign	Fază1	microARN mimic	Intraveons	NCT02369198	(van Zandwijk et al., 2017)
Remlarsen (MRG-201)	miR-29mimic	Cheloid	Fază1 Fază2	microARN mimic	Intradermic	NCT02603224 NCT03601052	(Gallant-Behm et al., 2019)
RGLS4326	anti-miR-17	Boala polichistică renală – forma autozomal dominantă	Fază 1b	microARN inhibitor	Subcutanat	NCT04536688	Nu a fost identificată nicio referință
RG012	anti-miR-21	Sindrom Alport	Fază1	microARN inhibitor	Subcutanat	NCT03373786	Nu a fost identificată nicio referință
Miravirsen(SPC3649)	anti-miR-122	Hepatită C	Fază1 Fază2	microARN inhibitor	Subcutanat	NCT01646489 NCT01200420 NCT01872936 NCT01727934	(Ottosen et al., 2015)
RG101	anti-miR-122	Hepatită C	Fază 1b	microARN inhibitor	Subcutanat	-	(van der Ree et al., 2017)

Cobomarsen(MRG-106)	anti-miR-155	<ul style="list-style-type: none"> - Limfom cutanat cu celule T¹ - Mycosis fungoides¹ - Leucemie limfocitară cronică - Limfom difuz cu celule B mari, subtip ABCleucemie/ limfom cu celule T la adult 	Fază1 Fază2	microARN inhibitor	Intra venos (studiul de fază I a studiat de asemenea administrare intratumoral și subcutanat)	NCT02580552 NCT03713320 NCT03837457	(Foss et al., 2017; Seto et al., 2018)
MRX34	miR-34amimic	<ul style="list-style-type: none"> - carcinom hepatic primitiv - SCLC - limfom - melanom - mielom multiplu - carcinom cu celule renale NSCLC 	Fază1 Fază 1,2	microARN mimic	intravenos	NCT01829971 NCT02862145	(Beg et al., 2016; Hong et al., 2020)
MRG-110	anti-miR-92a	patologii ischemice	Fază1	microARN inhibitor	intradermic	NCT03603431	Nu a fost identificată nicio referință
¹ doar limfomul cu celule T cutanat și mycosis fungoides au fost investigate în trialurile de fază 2 cu Cobomarsen							

10.3. Principalele impedimente cu privire la utilizarea clinică a microARN

În mod istoric, au existat mai multe probleme legate de utilizarea potențială a miARN-urilor în clinică. Unul dintre impedimentele majore a fost dezvoltarea unui sistem de stabilizare și livrare care să fie capabil să protejeze miARN și ASO de acțiunea nucleazelor și să livreze aceste entități la locul lor specific de acțiune - celula tumorală. MiARN-urile care nu utilizează un sistem de livrare ajung în compartimentul intracelular cu un randament scăzut datorită încărcăturilor negative implicate (Lee et al., 2019), un timp de înjumătățire în circulație redus (Yu, Zhao, Lee, & Lee, 2009) și datorită acțiunii distructive a nucleazelor. Stabilitatea miARN-ului *in vivo* poate fi îmbunătățită prin alterări chimice specifice, care permit livrarea fără un sistem de transport dedicat. Spre exemplu, anti-miARN pot fi stabilizate prin locked nucleic acid technique sau utilizând peptide nucleic acids (PNA) (Lennox & Behlke, 2011). Același lucru este valabil și în cazul miARN mimics.

În plus, există sisteme de livrare care sunt mediate de vectori virali și non-virali, ambele având avantaje și dezavantaje specifice (Paunovska, Loughrey, & Dahlman, 2022). Vectorii virali pot livra miARN-ul la un site specific, dar sunt limitați de mai mulți factori legați de originea lor virală - integrarea lor genomică, imunogenicitatea și reacțiile adverse consecutive, precum și costul ridicat. Vectorii non-virali includ nanoparticule lipidice, polimeri și lipide (Paunovska et al., 2022); nanoparticulele lipidice/lipidele sunt în prezent aprobate de FDA pentru livrarea siARN și livrarea vaccinului pe bază de tehnologie ARNm (Adams et al., 2018; Chaudhary, Weissman, & Whitehead, 2021). Principalele limitări ale acestor nanocarriers se referă la necesitatea de a îmbunătăți livrarea la site-ul deziderat și la eficiența scăzută de încapsulare (Cun et al., 2011; Lee et al., 2019).

Întrucât miARN-urile sunt molecule versatile cu ținte variate și nu cu o singură țintă, este necesar a se menționa potențialul pentru efecte adverse. De exemplu, Mirna Therapeutics Inc. a încheiat studiul de fază 1 MRX34 (NCT01829971) din cauza a 5 evenimente adverse imunologice severe. În ceea ce privește profilul de siguranță al MRX34, multe efecte adverse au fost legate de infuzia medicamentului - febră, frisoane, precum și greață și dispnee. În ceea ce privește alterări în cadrul parametrilor biochimici, Hong et al. menționează limfopenia, trombocitopenia, neutropenia, niveluri ridicate ale transaminazelor, hiperglicemia și chiar hiponatremia (Hong et al., 2020). Mai mult, după finalizarea infuziilor zilnice de MRX34, Hong et al. au raportat mai multe evenimente imunologice severe, inclusiv sindromul de eliberare de citokine, sepsisul, hipoxia și chiar insuficiența hepatică (Hong et al., 2020). MRX34 exemplifică nevoia de a perfecționa profilul de siguranță în viitoarele terapii cu miARN. Până la data publicării acestui capitol, niciun medicament bazat pe tehnologia miARN nu a intrat în faza III de studii clinice.

10.4. Direcții viitoare în terapia bazată pe microARN

Deși la momentul actual nu este complet dezvoltată, terapia bazată pe miARN prezintă un potențial major pentru utilizarea clinică viitoare. Acest lucru este derivat din implicarea extinsă a acestor ARN-uri non-codificatoare în patologia umană și în cancer, deoarece miARN sunt implicate în principalele procese ale progresiei cancerului.

Progresul din ultimii ani s-a tradus prin îmbunătățirea sistemelor de livrare și a modificărilor chimice de stabilizare, îmbunătățind astfel potențialul profil de efecte adverse. Ar fi indicat ca viitoarele cercetări în acest domeniu să se focuseze pe livrarea țintită a miARN *mimics* sau a inhibitorilor de miARN cu cât mai puține evenimente adverse posibile. O stabilitate crescută și o eficiență mai mare de încapsulare a unor miARN mai țintite sunt un deziderat, scăzând potențialul de evenimente adverse severe.

Bibliografie

- Adams, D., Gonzalez-Duarte, A., O'Riordan, W. D., Yang, C. C., Ueda, M., Kristen, A. V., Suhr, O. B. (2018). Patisiran, an RNAi Therapeutic, for Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med*, *379*(1), 11-21. doi:10.1056/NEJMoa1716153
- Beg, M. S., Hong, D. S., Sachdev, J. C., Brenner, A. J., Borad, M. J., Lim, H. Y., Kang, Y.-K. (2016). First-in-human trial of microRNA cancer therapy with MRX34, a liposomal miR-34 mimic: Phase Ia expansion in patients with advanced solid tumors. *Journal of Clinical Oncology*, *34*(15_suppl), TPS2597-TPS2597. doi:10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.TPS2597
- Chaudhary, N., Weissman, D., & Whitehead, K. A. (2021). mRNA vaccines for infectious diseases: principles, delivery and clinical translation. *Nat Rev Drug Discov*, *20*(11), 817-838. doi:10.1038/s41573-021-00283-5
- Cun, D., Jensen, D. K., Maltesen, M. J., Bunker, M., Whiteside, P., Scurr, D., Nielsen, H. M. (2011). High loading efficiency and sustained release of siRNA encapsulated in PLGA nanoparticles: quality by design optimization and characterization. *Eur J Pharm Biopharm*, *77*(1), 26-35. doi:10.1016/j.ejpb.2010.11.008
- Foss, F. M., Querfeld, C., Porcu, P., Kim, Y. H., Pacheco, T., Halwani, A. S., Marshall, W. S. (2017). Phase 1 trial evaluating MRG-106, a synthetic inhibitor of microRNA-155, in patients with cutaneous t-cell lymphoma (CTCL). *Journal of Clinical Oncology*, *35*(15_suppl), 7564-7564. doi:10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.7564
- Gallant-Behm, C. L., Piper, J., Lynch, J. M., Seto, A. G., Hong, S. J., Mustoe, T. A., Marshall, W. S. (2019). A MicroRNA-29 Mimic (Replarsen) Represses Extracellular Matrix

- Expression and Fibroplasia in the Skin. *J Invest Dermatol*, 139(5), 1073-1081. doi:10.1016/j.jid.2018.11.007
- Hong, D. S., Kang, Y. K., Borad, M., Sachdev, J., Ejadi, S., Lim, H. Y., . . . Beg, M. S. (2020). Phase 1 study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, in patients with advanced solid tumours. *Br J Cancer*, 122(11), 1630-1637. doi:10.1038/s41416-020-0802-1
- Lee, S. W. L., Paoletti, C., Campisi, M., Osaki, T., Adriani, G., Kamm, R. D., Chiono, V. (2019). MicroRNA delivery through nanoparticles. *J Control Release*, 313, 80-95. doi:10.1016/j.jconrel.2019.10.007
- Lennox, K. A., & Behlke, M. A. (2011). Chemical modification and design of anti-miRNA oligonucleotides. *Gene Ther*, 18(12), 1111-1120. doi:10.1038/gt.2011.100
- Ottosen, S., Parsley, T. B., Yang, L., Zeh, K., van Doorn, L. J., van der Veer, E., Patick, A. K. (2015). *In vitro* antiviral activity and preclinical and clinical resistance profile of miravirsin, a novel anti-hepatitis C virus therapeutic targeting the human factor miR-122. *Antimicrob Agents Chemother*, 59(1), 599-608. doi:10.1128/AAC.04220-14
- Pagni, S., Mills, J. D., Frankish, A., Mudge, J. M., & Sisodiya, S. M. (2022). Non-coding regulatory elements: Potential roles in disease and the case of epilepsy. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 48(3), e12775. doi:10.1111/nan.12775
- Paunovska, K., Loughrey, D., & Dahlman, J. E. (2022). Drug delivery systems for RNA therapeutics. *Nat Rev Genet*, 23(5), 265-280. doi:10.1038/s41576-021-00439-4
- Reid, G., Kao, S. C., Pavlakis, N., Brahmabhatt, H., MacDiarmid, J., Clarke, S., van Zandwijk, N. (2016). Clinical development of TargomiRs, a miRNA mimic-based treatment for patients with recurrent thoracic cancer. *Epigenomics*, 8(8), 1079-1085. doi:10.2217/epi-2016-0035
- Rupaimoole, R., & Slack, F. J. (2017). MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 16(3), 203-222. doi:10.1038/nrd.2016.246
- Seto, A. G., Beatty, X., Lynch, J. M., Hermreck, M., Tetzlaff, M., Duvic, M., & Jackson, A. L. (2018). Cobomarsen, an oligonucleotide inhibitor of miR-155, co-ordinately regulates multiple survival pathways to reduce cellular proliferation and survival in cutaneous T-cell lymphoma. *Br J Haematol*, 183(3), 428-444. doi:10.1111/bjh.15547
- van der Ree, M. H., de Vree, J. M., Stelma, F., Willemse, S., van der Valk, M., Rietdijk, S., . . . Reesink, H. W. (2017). Safety, tolerability, and antiviral effect of RG-101 in patients with chronic hepatitis C: a phase 1B, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet*, 389(10070), 709-717. doi:10.1016/S0140-6736(16)31715-9
- van Zandwijk, N., Pavlakis, N., Kao, S. C., Linton, A., Boyer, M. J., Clarke, S., Reid, G. (2017). Safety and activity of microRNA-loaded minicells in patients with recurrent


malignant pleural mesothelioma: a first-in-man, phase 1, open-label, dose-escalation study. *Lancet Oncol*, 18(10), 1386-1396. doi:10.1016/S1470-2045(17)30621-6

Wang, W. T., Han, C., Sun, Y. M., Chen, T. Q., & Chen, Y. Q. (2019). Noncoding RNAs in cancer therapy resistance and targeted drug development. *J Hematol Oncol*, 12(1), 55. doi:10.1186/s13045-019-0748-z

Winkle, M., El-Daly, S. M., Fabbri, M., & Calin, G. A. (2021). Noncoding RNA therapeutics - challenges and potential solutions. *Nat Rev Drug Discov*, 20(8), 629-651. doi:10.1038/s41573-021-00219-z

Yu, B., Zhao, X., Lee, L. J., & Lee, R. J. (2009). Targeted delivery systems for oligonucleotide therapeutics. *AAPS J*, 11(1), 195-203. doi:10.1208/s12248-009-9096-1

Zhang, B., Pan, X., Cobb, G. P., & Anderson, T. A. (2007). microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol*, 302(1), 1-12. doi:10.1016/j.ydbio.2006.08.028



Cartea **Epigenetica ARN și ARN-uri non-codificatoare** vine ca un mic compendiu pentru o nouă generație de cercetători în domeniul sănătății și științelor vieții, deschizând accesul la un domeniu nu numai de mare actualitate, ci și de cercetare și tehnologii complexe care pot descifra genomul uman, soluții terapeutice de ultimă generație și înțelegerea heterogenității tuturor entităților celulare care alcătuiesc corpul uman.

Cartea este scrisă pentru toți specialiștii în genomică și biologie moleculară, precum și pentru doctoranzi care lucrează în domeniul medicinei translaționale sau care intenționează să-și aprofundeze cunoștințele.

Inițiativa excelentă a fost realizată cu sprijinul a două instituții, Centrul de Genomică de la Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" și Spitalul Universitar Oslo, prin programul SEE.

Prof. Dr. Ioan Ștefan Florian

Medic Neurochirurg Principal, Șef de Secție Neurochirurgie, Spitalul de Urgență din Jud. Cluj
Șef Departament de Neurochirurgie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”
Cluj-Napoca

Vicepreședinte al Societății Române de Neurochirurgie

Președinte al EMN

Vicepreședinte al SeENS

Președinte al Comitetului pentru Boli Cerebrovasculare și Terapie al WFNS

Membru senior al WANS