

*UNDERGRADUATE RESEARCH*

## Mecanismos Epigenéticos envolvidos na carcinogênese cervical mediada pelo HPV16: uma revisão

MARJORIE CARDOSO PICAÑO

JAILY E SILVA ROSA

PAULA RAMOS BATISTA

ALICIA SARAIVA BARROSO

Acadêmicos de Farmácia | Faculdade Estácio do Amazonas  
Manaus-AM, Brasil

THIAGO COSTA BARBOSA

NAYARA SOUSA CASTRO

Docentes, Orientadores e Pesquisadores | Departamento de Farmácia  
Faculdade Estácio do Amazonas  
Manaus-AM, Brasil

### Abstract

*Human papillomaviruses are viruses capable of infecting skin and mucous membranes, of these, 12 are highly likely to induce cancer, and the other types can induce genital warts. Due to the large number of cases, cervical cancer associated with papillomavirus is considered the fourth disease that leads to death among women. Studies show that HPVs 16 and, often, 18, present great risks of progression to cervical carcinogenesis. The study of epigenetics as a means to prevent viral transcription and replication becomes a plausible alternative, due to its characteristics that differentiate it from genetics, since epigenetics goes beyond the study of heredity. This review provides a summary of the epigenetic mechanisms in cells infected with the HPV 16 virus and how the reversible nature of epigenetic changes can be used as an epigenetic therapy for cervical cancer.*

**Keywords:** DNA methylation; Cervical neoplasia; HPV16; Papillomavirus.

## **Resumo**

*Os Papilomavírus humanos são vírus capazes de infectar as peles e mucosas, destes, 12 tem alta probabilidade de induzir o câncer, e os outros tipos podem induzir a verrugas genitais. Por conta do grande número de casos, o câncer de colo uterino associado ao papilomavírus é considerado a quarta doença que leva a óbito entre mulheres. Estudos mostram que os HPVs 16 e, frequentemente, o 18, apresentam grandes riscos de progressão para a carcinogênese cervical. O estudo da epigenética como meio para prevenir a transcrição e replicação viral se torna uma alternativa plausível, por suas características que a diferenciam da genética, visto que a epigenética vai além do estudo da hereditariedade. Esta revisão apresenta um resumo sobre os mecanismos epigenéticos ocorrentes em células infectadas pelo vírus HPV 16 e sobre como a reversibilidade das modificações epigenéticas pode ser uma alternativa de terapia para o câncer cervical.*

**Palavras-Chave:** Metilação do DNA; Neoplasia cervical; HPV 16; Papilomavirus.

## **1 INTRODUÇÃO**

Os Papilomavírus humano são capazes de infectar a pele e mucosas, cuja diversidade é representada por mais de 200 tipos de HPV, 40 podem infectar a área anogenital, sendo 12 deles de alto risco por apresentarem um grande potencial carcinogênico (FLORIN et al, 2002; STERLING, 2004; LETO et al, 2011).

O HPV 16 e 18 estão envolvidos em cerca de 70% dos cânceres de colo de útero em todo o mundo (BUCK et al, 2008). O agente patogênico é responsável por 6% de todas as neoplasias entre mulheres, com cerca de 500 mil novos casos diagnosticado a cada ano e aproximadamente 291 milhões de mulheres no mundo são portadoras do vírus, porém, apenas em 32% são encontrados os tipos 16 e 18 ou ambos, que são os genótipos de alto risco mais comuns (PARKIM, 2001; INCA, 2020).

A cada ano são estimados 570 mil novos casos no mundo e 311 mil se dão em óbitos, sendo assim, a quarta doença que leva ao óbito entre mulheres (INCA, 2020). Um dos principais fatores que levam ao

desenvolvimento do câncer uterino é a infecção papilomavírus humano por meio do contato pele a pele, através da vagina, ânus ou sexo oral, ou mesmo apenas em contato com os órgãos genitais de um parceiro infectado, podendo infectar a pele e as mucosas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

As características do colo do útero e do corpo do útero são de grande importância para a detecção desse tipo de câncer. Segundo o INCOLO (2009), na maioria dos casos, o câncer de colo do útero apresentará uma lesão denominada lesão precursora do colo do útero (LP) antes de se tornar uma doença maligna, podendo ser encontrada através de exames preventivos regulares do colo do útero.

O câncer é um processo no qual erros genéticos e epigenéticos se acumulam e transformam células normais em células tumorais invasivas ou metastáticas (RODENHISER, 2006). Os eventos epigenéticos apresentam um importante papel para o desenvolvimento normal do DNA e são cruciais para estabelecer a programação correta da expressão dos genes. Erros nessa etapa, podem levar a uma expressão aberrante de genes e a uma perda de check-points anticâncer (ROTHHAMMERR et al., 2007).

No que diz respeito a infecção pelo HPV, pode-se dizer que a célula infectada por esse vírus apresenta-se em um forte estado de instabilidade genômica, tanto por mutações comuns em tumores humanos, como no gene TP53, quanto por mecanismos epigenéticos, como a segregação nuclear da proteína ou formação de complexos virais (oncoproteína E6 do HPV). A Epigenética é definida como alterações na função do gene, porém, tal alteração não modifica a sequência de bases nucleotídicas nas moléculas de DNA (EGGER et al, 2004). Existem algumas diferenças entre a epigenética e os mecanismos genéticos convencionais: reversibilidade, efeitos de localização e capacidade de agir à distância inesperadas superiores a um único gene (FEINBERG, 2001).

Sabe-se que os mecanismos carcinogênicos do câncer cervical estão cada vez mais evidentes, porém os mecanismos epigenéticos não estão bem esclarecidos. Dessa forma, tendo em vista a importância de tais mecanismos no desenvolvimento do câncer, bem como o diagnóstico e prognóstico, este trabalho tem como objetivo revisar a literatura sobre os mecanismos de regulação epigenética associados a carcinogênese cervical induzida pelo HPV16, bem como mostrar a natureza reversível

das modificações epigenéticas pode ser utilizada como terapia epigenética para o câncer cervical.

## 2 METODOLOGIA

O presente estudo consiste em uma revisão narrativa da literatura, sobre os mecanismos epigenéticos relacionados ao HPV 16 e o câncer de colo de útero, realizada a partir de artigos indexados nas bases de dados: Pubmed (National Library of Medicine and National Institutes of Health), Science Direct, Scielo, Medline e Periódicos CAPES. A pesquisa foi realizada a partir dos descritores: metilação do DNA, neoplasia cervical e HPV 16. As descrições em inglês para o estudo foram: *DNA methylation, cervical cancer, HPV 16, epigenetic mechanisms, histone modification*.

As buscas foram realizadas com base nos dados publicados nos últimos 20 anos (2000 a 2020).

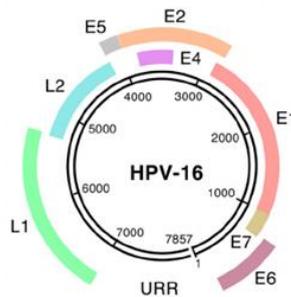
## 3 VÍRUS DO PAPILOMA E GENOMA

Os genótipos do papiloma humano foram categorizados em gêneros filogenéticos como Alpha, Beta, Gamma, Mu e Nu (DOORBAR et al., 2012). O gênero Alpha agrupa 14 espécies de HPV, sendo o alpha-9 ao HPV 16 e demais (ALMEIDA et al., 2016).

Os tipos de HPV são classificados entre vírus de alto ou baixo risco oncogênico, de acordo com a propensão das células infectadas à transformação neoplásica (DE VILLIERS et al., 2004). Os tipos de alto risco do gênero Alpha são transmitidos sexualmente, sendo o tipo 16 o mais comum, encontrados em mulheres com citologia normal aparente, estando presente em 70% de todos os cânceres cervicais (ROSA et al., 2009).

Os vírus alfa de papiloma de alto risco apresentam dois promotores, promotor tardio (LP ou p670), que regulam a expressão gênica das proteínas tardias L1 e L2; e promotor precoce (PE ou p97) que controla a expressão gênica das proteínas iniciais E1, E2, E4, E5, E6 e E7. (Figura 1).

**Figura 1. Genoma do HPV 16**



**Fonte:** Riemer et al., 2010. *The Journal of biological chemistry*.  
Representação do genoma episomal do HPV 16

As proteínas virais precoces e tardias exercem função diferente na célula infectada. Na região E, E1 tem relação com a replicação viral, E2 com a transcrição e replicação, E4 com a maturação viral e alteração da matriz intracelular. E5, E6 e E7 estão envolvidos na transformação celular. A região L é formada pelos genes L1 e L2, que codificam as proteínas do capsídeo (Tabela 1).

A região não codificante entre os genes L1 e E6 é denominada de LCR (*Long Control Region*) e compreende aproximadamente 10% do genoma viral. Fatores de transcrição virais e celulares se ligam a sequências específicas da LCR regulando a transcrição dos genes precoces (BERNARD, 2005).

**Tabela 1. Funções principais dos genes precoces e tardios.**

EXPRESSÃO GÊNICA	GENE	FUNÇÃO
TARDIA	L1	Proteína do capsídeo principal
	L2	Proteína do capsídeo menor
PRECOCE	E1	Fator de transcrição, atividade helicase. Medeia a replicação do DNA episomal.
	E2	Fator de transcrição. Regula o número de cópias virais.
	E4	Facilita a liberação do vírus.
	E5	Estimula a proliferação celular e evita a diferenciação. Regula negativamente a expressão de MHC classe I.
	E6	Desregula o controle do ciclo celular através da degradação e inativação de p53. Induz transformação maligna junto com E7.
	E7	Mantém as células ativas no ciclo celular por meio da inativação de RB. Induz sozinho a transformação maligna e junto com E6.

Fonte: Adaptado de Riemer et al., 2010. Relação dos genes promotores do Papilomavírus Humano e suas requeridas funções.

O ciclo normal da infecção pelo HPV tem consecutivos cinco etapas, a infecção do HPV pela pele ou mucosas, a manutenção do genoma do estado episomal do HPV, a fase de proliferação, amplificação do genoma e síntese e liberação de novas partículas virais (DOORBAR, 2005).

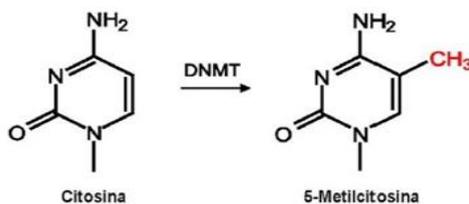
Um grande número de lesões da região cervical está associado à presença do HPV, desde anormalidades citológicas incipientes, até o câncer cervical. Observa-se relação de HPV e câncer de colo do útero em cerca de 90% a 100% dos casos. A infecção cervical por alguns tipos de HPV é um fator importante no aparecimento da neoplasia cervical, embora outros cofatores atuem para que ocorra o desenvolvimento da neoplasia. A regulação epigenética da transcrição do HPV é necessária para estabelecer os episomas, manter e completar o genoma do ciclo de vida produtivo do HPV (DOORBAR, 2005).

#### 4 MECANISMOS EPIGENÉTICOS ASSOCIADOS A CARCINOGÊNESE MEDIADA PELO HPV 16

##### 4.1. METILAÇÃO

Foi observado no estudo das modificações que ocorrem no DNA, que nas histonas ocorrem modificações com a chamada metilação (OLIVEIRA et al., 2010). A metilação consiste na adição covalente de um radical metil (CH<sub>3</sub>) no DNA e é transferido da S-adenosilmetionina para o carbono 5 da base nitrogenada citosina (5-MeC) que é seguida por uma base guanina (dinucleotídeo CpG). Após a adição do radical metil, a base nitrogenada metilada passa a se chamar 5-metil-citosina. Essa adição é pela ação de uma família de enzimas que recebe o nome de DNA metiltransferase (GEBERT et al., 2009).

Figura 3. Metilação do DNA



Fonte: Vieira, 2007. Adição do grupo metil ao carbono 5 do anel de citosina, reação mediada pela DNA metiltransferase

A DNMT1 (DNMT), que pode ser de 3 tipos: DNMT3A e DNMT3B são responsáveis por fazer novas metilações, enquanto a DNMT1 cuida da manutenção da metilação (LISTER et al., 2009).

DNMT1 é a principal metiltransferase de manutenção, restaurando o padrão de metilação no DNA recém-replicado (FUKS, 2005) e foi relatado como sendo necessário para a manutenção da transformação celular por fos (ORDWAY et al., 2005).

As mudanças nessas etapas de equilíbrio rápido explicam muitas das características previamente descritas da catálise DNMT1 e especificidade, incluindo reações mais rápidas com DNA pré-metilado versus DNA não metilado, reações mais rápidas com DNA em que a guanina é substituída por inosina. As interações do DNMT1 com a guanina dentro do local de reconhecimento do CpG podem impedir a liberação prematura da base de destino e o acesso solvente ao local ativo que pode levar à desaminação mutagênica (McCABE et al., 2005).

Foi relatado que o DNMT3A é superexpresso em tumores positivos para o HPV e que a superexpressão do DNMT1 leva a um aumento da metilação geral do DNA e transformação das células NIH 3 T3 (SARTOR, 2011). Além disso, foi demonstrado um aumento nos níveis de proteína DNMT1 na NIC de baixo grau e no CEC em comparação com o epitélio normal (SAWADA, 2007). Essas observações posicionaram o DNMT1 como um regulador da progressão do tumor.

## **4.2. MODIFICAÇÕES DE HISTONAS**

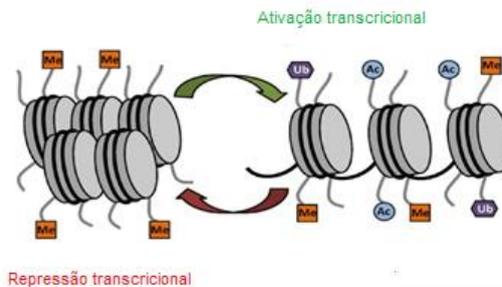
Além da metilação do DNA, a modificação de histonas também interfere na expressão gênica, afetando a cromatina. Modificações pós-transcricionais tem um papel importante na regulação de processos celulares, manutenção de células tronco, determinação e manutenção do destino celular, controle do ciclo celular e herdabilidade epigenética de programas transcricionais (SOTO et al., 2017).

Tais mudanças estabelecem códigos de histonas, que regulam a expressão gênica e afetam o acesso da célula à transcrição do DNA. Algumas modificações produzem condensação da cromatina (heterocromatina), na qual o DNA e as histonas são compactados, impedindo o acesso aos fatores de transcrição, enquanto outras modificações promovem a expressão gênica. (ROACH et al., 2011). A expressão anormal de reguladores da cromatina pode afetar o desenvolvimento de vários tipos de câncer (KOUZARIDES, 2012).

Modificações pós-traducionais distintas nas histonas, ou combinações, caracterizam a cromatina transcricionalmente ativa e silenciosa. Geralmente, os genes ativos da transcrição (caracterizados por promotores com dinucleotídeos e nucleossomos de CpG não metilados) são arranjados de modo que os fatores de transcrição e regulação sejam impedidos (SOTO et al., 2017).

As enzimas que modificam histonas e outros componentes da cromatina são proteínas escritas designadas, e essas modificações são reversíveis e são removidas por borrachas como HDACs, histona desmetilases e histona desubiquitinases. As modificações são reconhecidas pelas proteínas do leitor, que se ligam às histonas modificadas e recrutam proteínas adicionais e, finalmente, realizam a tradução funcional da marca epigenética (SOTO et al., 2017).

**Figura 1. Principais mecanismos de modificação das histonas**



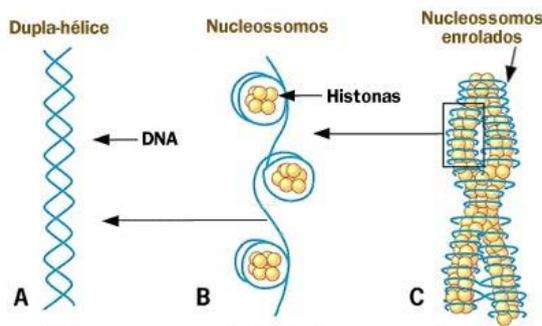
**Fonte:** Oliveira, 2005 (modificado). Representação dos principais mecanismos de modificações de histonas responsáveis pela modulação da expressão gênica

Na parte esquerda está a cromatina condensada, onde o DNA está inacessível para a transcrição. Para que ocorra a mudança para conformação ativada da cromatina (conforme no lado direito) modificações potencialmente reversíveis de histonas na porção N-terminal são necessárias. O mecanismo de acetilação é caracterizado pela transferência de grupo acetila do co-fator acetil coenzima A catalisado pelas HATs, de modo oposto, a remoção do grupo acetila do resíduo é promovido HDACs. Na metilação da histona, o efeito sobre a conformação da cromatina depende do resíduo de lisina específico a ser metilado.

### 4.3. FOSFORILAÇÃO DAS HISTONAS

A fosforilação das histonas está relacionada à condensação e separação dos cromossomos, à transcrição e reparo do dano ao DNA e à ativação da apoptose celular. Portanto, a fosforilação da histona H3 envolve dois processos estruturalmente opostos: a ativação transcricional requer que as fibras da cromatina se condensem entre as fases, enquanto a aglutinação cromossômica condensa durante a divisão celular (MONTANHER et al., 2015).

**Figura 5. Fosforilação de histonas**



**Fonte:** arquivo.ufv.br/dbg/genetica/cap10. A - Evidenciando a dupla-hélice, composta apenas de DNA. B – Segmento de DNA com as histonas. Essa junção é denominada nucleossomos e se faz importante para a condensação do DNA. C – Sequência de DNA mais nucleossomos gerando um alto grau de condensação.

### 4.4. ACETILAÇÃO

Acetilação é o mecanismo que permite a alteração das oncoproteínas E6 e E7 do HPV, modificando a competência transcricional das células infectadas, associando-se e/ou modulando a expressão, bem como as atividades das enzimas modificadoras de histonas e remodeladoras de cromatina (SOTO et al., 2017).

O grupo acetil na acetilação da histona é retirado da Acetil-Coenzima A, e na desacetilação da histona o grupo acetil é transferido para a Coenzima A. Estudos mostraram um envolvimento da acetilação na formação da memória de longa duração e que o uso de inibidores de HDACs durante a consolidação facilita a memória. (MONTANHER et al., 2015). As histonas acetiltransferases (HATs) (também chamadas de lisina acetiltransferases (KATs)) promovem a acetilação das histonas, enquanto as histonas desacetilases (HDACs) promovem a acetilação das histonas (ALLIS et al., 2007; IACOBUZIO-DONAHUE, 2009).

HAT é um coativador transcricional que não se liga diretamente ao DNA, mas se liga a ativadores (como proteínas de bromodomínio), que se ligam a resíduos de lisina específicos nas histonas (ABCAM, 2011; KOUZARIDES, 2007).

A acetilação de seus aminoácidos lisina, faz com que a carga positiva das mesmas seja neutralizada, e ocorra o enfraquecimento da interação da cauda da histona com o DNA local carregado negativamente, induzindo abertura local das estruturas da cromatina. Desta forma, o DNA local é exposto, aumentando o acesso de fatores de transcrição e promovendo aumentos significativos na transcrição gênica (MONTANHER et al., 2015).

A acetilação das histonas afeta a função dos cromossomos através de dois mecanismos distintos, alterando a carga eletrostática das histonas e mudando as suas propriedades estruturais e ligantes do DNA, ou podem criar, estabilizar, romper ou ocluir domínios de interação na cromatina para proteínas regulatórias, como fatores de transcrição, proteínas envolvidas na condensação da cromatina e reparo ao DNA. Desta forma, fica evidenciado que alterações nas histonas constituem a principal categoria de controle transcricional epigenético (FEINBERG; TYCKO, 2004).

Quando a acetilação e desacetilação das histonas estão desequilibradas, devido às alterações de HAT e HDAC, a expressão gênica desregulada na região promotora pode estar relacionada ao câncer e à progressão tumoral. (LEHRMANN et al., 2002).

A influência do relaxamento da regulação no mecanismo de acetilação das histonas pode levar à falta de controle sobre a atividade transcricional de vários genes na epigenética, desencadeando eventos que contribuem para a transformação maligna. Isso porque, sob a ação das histonas acetiladas, a estrutura da cromatina relaxa, promovendo assim a acessibilidade e o recrutamento de fatores nucleares para o DNA que afetam a transcrição, o que é útil para determinar a formação, invasividade e até mesmo a formação de tumores. Importante. Sua resposta à quimioterapia (BURDELSKI et al., 2015).

Segundo a estimativa, existem mais de 100 modificações epigenéticas que podem afetar a cromatina. Resíduos de aminoácidos formam as “caudas das histonas”, que são as regiões nas quais ocorrem muitas modificações epigenéticas. A acetilação das histonas resulta na descompactação da cromatina, o que permite a expressão gênica. As

enzimas Histonas Desacetilases (HDACs) retiram o radical acetil, promovendo a compactação da cromatina e inibindo a transcrição.

#### **4.5. miRNA**

MicroRNA (miRNA) é um pequeno RNA não codificante que é conservado ao longo do processo evolutivo. Ele pode regular a expressão gênica pós-transcricional degradando ou inibindo a tradução de moléculas de RNA mensageiro alvo (mRNA). (COWLAND et al., 2007). Alguns estudos indicam que um miRNA possa regular 200 RNAs apresentando funções totalmente diversas. Desta forma, os miRNAs constituem uma enorme e complexa rede regulatória da sinalização celular (VALENCIA-SANCHEZ, 2006).

Eles são encontrados nas regiões do genoma, íntron ou exon do genoma. Embora as propriedades biológicas dos miRNAs ainda não sejam totalmente compreendidas, essas moléculas têm sido associadas a vários processos biológicos, como apoptose, proliferação, diferenciação, metástase, etc. (ALMEIDA et al., 2011), e desempenham papéis importantes em células de mamíferos. efeito. No desenvolvimento humano, diferenciação celular, homeostase, adaptação ao meio ambiente, desenvolvimento corporal e a interação entre células hospedeiras e patógenos (HA, 2011).

Como os miRNAs afetam a expressão gênica, esses RNAs representam moléculas importantes que mantêm o equilíbrio entre oncogenes e genes supressores de tumor (DALMAY, 2008). Alguns miRNAs promovem a proliferação celular e inibem a apoptose celular, outros determinam a taxa de sobrevivência e redução da proliferação celular (COWLAND et al., 2007). Esses dois tipos são designados como miRNAs cancerígenos (GARTEL, 2008) e miRNA supressor de tumor (KOZAKI et al., 2008). Dependendo do fundo e do tipo de célula em que são expressos, o mesmo miRNA pode exibir atividade carcinogênica ou supressora de tumor (SASSEN et al., 2008). Além disso, um único miRNA pode regular vários genes alvo (ZHANG et al., 2007) e controlar as atividades opostas ao mesmo tempo, como proliferação celular e apoptose (SASSEN et al., 2008).

A infecção por HPV influencia a expressão de numerosos microRNAs celulares que estarão relacionados com a promoção da patogênese viral. Estudos recentes sugerem os miRNAs como possíveis marcadores para a ocorrência e desenvolvimento das neoplasias

associadas ao HPV. Assim, as diferenças entre o padrão de miRNAs específicos de tumores pode ser útil para distinguir lesões associadas ao mesmo vírus. Além disso, ensaios *in vitro* foram realizados para avaliar alterações na expressão de miRNAs promovidas pela presença das oncoproteínas do HPV (WALD et al., 2011) examinaram culturas de células de HPV positivas e verificou que a expressão do gene E6 do HPV16 foi suficiente para alterar a expressão de alguns miRNAs, indicando assim que o vírus está diretamente relacionado com estas alterações. Estes dados que relacionam oncogenes do HPV e a expressão dos miRNAs fornecem evidências de que essa interação poderia fornecer novas formas de diagnóstico, prognóstico e tratamento de neoplasias associadas ao HPV. Foram identificados vários miRNAs com expressão desregulada em neoplasias malignas associadas à infecção por HPV, como o miR-15a / miR-16 /, miR-143 / miR-145 e o cluster miR-106-363. O conhecimento sobre a influência dos miRNAs em neoplasias associadas à infecção por HPV ainda é limitado. No entanto, coloca-se a hipótese de as alterações na expressão dos miRNAs da célula hospedeira, causadas pela presença do HPV, adicionarem complexidade à transformação celular induzida pelo vírus que poderá ser parcialmente responsável pelos diferentes comportamentos clínicos das neoplasias associadas ao HPV (MARTEL et al., 2012).

Até o momento, nenhum miRNAs codificado por HPV foi descoberto, no entanto, a expressão do miRNA do hospedeiro é alterada na presença de HPV no tecido do câncer do colo do útero e nas lesões precursoras, bem como nas linhas celulares do câncer do colo do útero e nos queratinócitos que expressam as oncoproteínas do HPV (SOTO et al., 2017).

## **6 GENES E MECANISMOS EPIGENÉTICOS**

### **6.1 Hipometilação**

A hipometilação impede que genes oncogênicos sejam silenciados, facilitando o desenvolvimento de quadros cancerosos. Esses dados apontam que a relação entre metilação e câncer seria causada pela instabilidade no funcionamento dos mecanismos de silenciamento genético, o que levaria à desregulação de genes envolvidos no controle de fatores relacionados ao desenvolvimento de câncer (VRBA, LUKAS et al., 2013).

Normalmente afeta seqüências repetitivas e retrotransposons, o que tem sido correlacionado à instabilidade genômica, característica comum em tumores (HINSHELWOOD; CLARK, 2008). A hipometilação é uma progressão de uma doença pré-maligna para um tumor maligno totalmente desenvolvido.

Estudos relatam que ilhas CpG são metiladas com certa frequência em tecidos somáticos (STRICHMAN-ALMASHANU, 2002) e que a desmetilação pode levar a ativação de genes próximos, como HRAS. Demonstrações experimentais mostraram que a hipometilação leva à ativação de genes importantes para o desenvolvimento de câncer, como a desmetilação do promotor CpG e superexpressão de 14-3-3 sigma, maspin, heparanase e S100A4 em vários tipos de tumores (SATO et al. 2003; AKIYAMA et al. 2003; OGISHIMA et al. 2005).

## **6.2 Hipermetilação**

O gene promotor da hipermetilação é a causa ou consequência para o silenciamento do gene supressor de tumor, mas é ainda um motivo de controvérsia, no entanto, estes pontos de vista não são mutuamente exclusivos. Que a metilação do DNA é causal foi demonstrado pela capacidade dos diversos compostos farmacológicos e técnicas moleculares para reativar a expressão do gene após a inibição de metilação de DNA em células de câncer (SZYF, 2004).

Frequentemente, células cancerosas são uma hipometilação global do genoma e uma hipermetilação de “ilhas CpG”. Estas alterações no padrão de metilação do DNA, muito freqüentemente resultam em um inadequado silenciamento gênico, principalmente de genes supressores tumorais, levando ao desenvolvimento de neoplasias (MOSS et al., 2007).

Ainda, os padrões de metilação do genoma são alterados com o decorrer da idade. Geralmente ocorre uma hipometilação global concomitante com a hipermetilação de algumas ilhas CpG distribuídas em seqüências repetitivas, bem como em alguns genes transcricionalmente relevantes (FRAGA et al., 2005).

De outra forma, alguns resultados sugerem que o silenciamento de genes induzido por hipermetilação pode ser secundária a modificações que determinam a expressão do gene, tais como a modificação da cromatina, assim que a metilação ajuda a manter o estado do gene silenciado (BACHMAN, 2003).

O silenciamento epigenético causado pela hipermetilação ocorre tão frequentemente quanto mutações e deleções, que podem levar ao silenciamento do gene supressor de tumor no câncer. Além disso, durante o processo de envelhecimento e carcinogênese, observa-se aumento da metilação de promotores de genes específicos. (GONZALO, 2010).

Pesquisas mostraram que a hipo e a hipermetilação do DNA estão diretamente relacionadas com o câncer por meio de mecanismos, onde são divididos em quatro, demetilação global do DNA, hipermetilação de genes supressores tumorais, transição de 5-metilcitosina para timina em células tumorais, e indução da instabilidade cromossômica (LU et al., 2006; MOSS, 2007).

### **6.3 Regulação de miRNA**

Até o momento, nenhum miRNAs codificado por HPV foi descoberto. No entanto, a expressão do miRNA do hospedeiro é alterada na presença de HPV no tecido do câncer do colo de útero e nas lesões precursoras, bem como nas linhas celulares do câncer uterino e nos queratinócitos que expressam as oncoproteínas do HPV incluindo miR-9, miR-21, miR-143, miR-203 e miR-372, entre outros, foram implicados em diferentes aspectos da carcinogênese cervical, com a expressão de alguns microRNAs aumentados (miR-21, miR-143, miR-9) e outros diminuíram (miR-34a, miR-203, miR-372) (YAO T; LING Z, 2012).

O microRNA 21 (miR-21) tem sido bastante mencionado em estudos relacionados a carcinogênese, porém, sua função e mecanismo molecular sobre o câncer cervical, ainda não foram estudados. Usando o PCR quantitativo TaqMan, pôde-se confirmar que o miR-21 é bastante superexpresso em tecidos escamosos de câncer cervical humano e linhas celulares. Seu nível está correlacionado com a diferenciação do tumor e o status nodal pelo ISH, e ele também regula a proliferação, apoptose e migração de células escamosas cervicais positivas do HPV16 (YAO T; LING Z, 2012).

Quaisquer miRNAs que sejam expressos em níveis superiores ou inferiores em exossôis liberados das células expressas HPV16 E6/E7, comparando com queratinócitos humanos primários de controle, podem servir como potenciais biomarcadores para doenças e cânceres associados ao HPV (HONEGGER et al., 2015).

A análise da expressão de miRNAs expressos no HPV16 E6/E7 HFK, mostrou que a transferência de exossôis para outros tipos de células para células receptoras foi previamente ligada a efeitos sobre apoptose e necrose (RIVOLTINI et al., 2016).

## **7 ABORDAGENS TERAPEUTICAS**

A terapia de tratamento do HPV, tem por objetivo a eliminação da transmissão das células contaminadas, assim levando ao desaparecimento das lesões por conseguinte.

A alteração que é apresentada na desregulação dos genes supressores e oncogenes relacionados ao HPV16, forma um ambiente favorável a proliferação das células cancerígenas, muitas delas, devidas a mecanismos epigenéticos que já foram citados neste trabalho (metilação, modificação de histonas, entre outros). Porém, a vantagem que as células cancerígenas tem, também pode influenciar para que sejam identificados os alvos terapêuticos para que estes sejam influenciados a trabalhar de forma a eliminar a patogênese e progressão do câncer. Alguns estudos atuais, descrevem drogas que causam os mecanismos epigenéticos na célula cancerígena (ALFARO-MORA et al., 2019).

Um estudo feito por Song Y. e Zhang C., emprega a Hidralazina como um vasodilatador periférico e inibidor de metilação do DNA, e observaram uma restauração do gene APC em células cervicais HeLa e CasKi (ALFARO-MORA et al., 2019; SONG Y et al., 2009).

Em 2005, Zambrano e colegas, descobriram através de um estudo, no qual foi administrado diferentes doses de Hidralazina (de 25 mg / 8 ha 50 mg / 8 h) por um período de 10 dias, oito genes supressores do tumor foram desmetilados e reexpressos em pacientes com câncer cervical, sem afetar a metilação do DNA global (ALFARO-MORA et al., 2019; ZAMBRANO et al., 2005). E em outro estudo, a Hidralazina em combinação com o Valproato, mostrou que os transcritos E6 e E7 permanecem inalterados nos tumores primários de pacientes com câncer cervical (ALFARO-MORA et al., 2019; DE LA CRUZ-HERNANDEZ et al., 2007).

Existe outro composto que pode restaurar a expressão de genes supressores de tumor hipermetilados que é a Trichosantina (TCS). Onde, a TCS é uma proteína inativadora de ribossomo 237aa e é

extraída da raiz do medicamento fitoterápico chinês *Trichocanthes kirilowi*. Huang juntamente com seus colegas relataram que o DNMT1 tratou as células de câncer cervical HeLa e CaSki com doses de 20, 40 e 80 µg / ml, respectivamente, durante 48 horas. Após o tratamento, o mRNA, os níveis de proteína e a atividade enzimática diminuíram de maneira dependente da dose. (HUANG Y et al., 2012).

Apicidina é um inibidor da histona desacetilase, que pode induzir baixa regulação de DNMT1 e aumentar a expressão de p21WAF1 na linha celular do câncer cervical hela. A regulação de DNMT1 mediada por apicidina é alcançada pela sub-acetilação significativa de H3 e H4 nos nucleossomos no local de início da transcrição de DNMT1, a depleção dos marcadores de transcrição do gene H3K4me3 e os marcadores repressores de H3K9me3 e H3K27me3. Além disso, o tratamento com apidina resultou em uma redução na presença de Pol II no local de iniciação da transcrição, e o recrutamento do repressor sinérgico pRB e HDAC1 e ativadores P / CAF e HAT dissociaram o promotor DNMT1 do local de consenso E2F neste local. No entanto, em comparação com DNMT1, as células HeLa tratadas com apicidina sozinha não induziram a apoptose das células HeLa, o que levaria à apoptose, indicando que outros alvos são necessários para atingir a apidina. (JS et al., 2008).

A quercetina é um flavonóide que se encontra em frutas e vegetais e também tem efeitos epigenéticos. Relataram que a quercetina induz peroxidação lipídica reduzida, agregação plaquetária, permeabilidade capilar e letalidade contra células de câncer cervical HeLa (Li et al., 2016). A quercetina pode inibir a atividade de DNMT1, HDAC, H3K9 e HMT de uma maneira dependente da dose a 25 e 50 µM. A mesma concentração de quercetina, houve uma diminuição na porcentagem de metilação fazendo com que tivesse um aumento de expressão de APC, CDH1, CDH13, DAPK1, FHTI, GSTP1, MGMT, MLH1, PTEN, RARB, RASSF1, SOC51, TIMP3 e VHL. A metilação geral do DNA é dependente da dose. Porém, a quercetina regula a expressão de várias enzimas além dos modificadores da cromatina de uma maneira dependente da dose, como HDAC2, HDAC1, DNMT1, HDAC3, HAT1, DNMT3B, HDAC7, HDAC6, HDAC11, DNMT3A e HDAC5. (KEDHARI et al., 2019).

## 8 CONCLUSÃO

A regulação epigenética da transcrição do HPV é necessária para estabelecer os episômas, manter e completar o genoma do ciclo de vida produtivo do HPV. A complexa interação da regulação epigenética positiva e negativa da transcrição do HPV é inseparável do estado de diferenciação das células infectadas. O genoma viral existe em células basais indiferenciadas em um estado suprimido epigenético, e o nível de expressão do gene é baixo, então o episôma pode se replicar, mas irá prevenir a ativação imune. À medida que a célula entra no processo de diferenciação, a supressão epigenética do genoma viral é aliviada, e a estrutura da cromatina viral permanece ativa, resultando em um aumento na expressão de proteínas de replicação viral e na ativação de promotores tardios e capsídeos. Produção de proteínas. Este programa de transcrição complexo requer múltiplos reguladores epigenéticos de células hospedeiras, que parecem ser interrompidos na carcinogênese induzida por HPV, proporcionando assim a possibilidade de novas estratégias terapêuticas para doenças induzidas por HPV.

A identificação do HPV em muitas lesões tem possibilitado a análise de muitos alvos moleculares de atuação das oncoproteínas E6 e E7. Essas proteínas, principalmente aquelas dos subtipos de alto risco, possuem importantes funções moduladoras do ciclo celular, bem como em outros mecanismos associados à patogênese viral. A expressão dos oncogenes virais E6 e E7 é consistentemente demonstrada em linhagens de células de carcinoma cervical.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCAM. Epigenetic modifications. 2011, 12 mar. 2013.
- AKIYAMA, Y.; MAESAWA, C.; OGASAWARA, S.; TERASHIMA, M.; MASUDA, T. Celltype-specific repression of the maspin gene is disrupted frequently by demethylation at the promoter region in gastric intestinal metaplasia and cancer cells. *Am J Pathol*, v. 163, n. 5, p. 1911-1919, Nov., 2003.
- ALFARO-MORA Y, HERRERA L A, CÁCERES-GUTIÉRREZ R, ANDONEGUI-ELGUERA M A, DOMINGUEZ-GÓMEZ G, DÍAZ-CHÁVEZ J. O papel da epigenética no câncer cervical . Intechopen 2019.
- ALLIS, C. D.; KOUZARIDES, T. New nomenclature for chromatin-modifying enzymes. *Cell*, Cambridge v. 131, p. 633-636, 2007.

- ALMEIDA LM, MONTENEGRO RC, MOREIRA MAM, PONTES VB. Estudo dos genótipos do HPV e fatores associados ao diagnóstico do câncer do colo do útero em estágio inicial em mulheres atendidas na unidade de saúde de referência oncológica do estado do Pará. Rio de Janeiro, 2016.
- ALMEIDA, M. I.; REIS, R. M.; CALIN, G. A. História do MicroRNA: descoberta, aplicações recentes e próximas fronteiras. Pesquisa de mutação / Mecanismos fundamentais e moleculares de mutagenese , 2011.
- BACHMAN, K. E. Histone modifications and silencing prior to DNA methylation of a tumor suppressor gene. *Cancer Cell*, v. 3, n. 1, p. 89-95, Jan., 2003.
- Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, Evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J. Clin. Virol.* 32 Suppl 1S1-S6, 2005.
- BUCK CB, Cheng N, Thompson CD, Lowy DR, Steven AC, Schiller JT, et al. Arrangement of L2 within the papillomavirus capsid. *J Virol* 2008; 82:5190-7.
- BURDELSKI, C. et al. HDAC1. A super expressão independentemente da recorrência bioquímica e está associada à rápida proliferação de células tumorais e instabilidade genômica no câncer de próstata. *Exp Mol Pathol*, v. 98, n. 3, p. 419-26, Jun 2015.
- COWLAND, J.B., HOTHER, C. and GRØNBÆK, K. MicroRNAs and cancer. *APMIS*, 115: 1090-1106. 2007
- D'ALESSANDRO, A A B. Estudo genético e epigenético no prognóstico do câncer cervical por meio da verificação de HPV de baixo e alto risco e da metilação e não metilação dos genes RARB, TIMP3, CDHI e MGMT. Universidade Federal de Goiás. 2014.
- DALMAY T. MicroRNAs e câncer. *J Intern Med*, 2008.
- DAWSON, M.A.; KOUZARIDES, T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell*, v. 150, n. 1, p. 12-27, Jul 2012.
- DE LA CRUZ, Hernandez E, et al. The effects of DNA methylation and histone deacetylase inhibitors on human papillomavirus early gene expression in cervical cancer, an in vitro and clinical study. *Virology Journal*. 2007; 4:18.
- DE VILLIERS, E M. FAUQUET C, Broker T R, BERNARD H U; ZUR, Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004. v. 324, p. 17-27.
- DOORBAR, J; QUINT, W, Banks L, Bravo I G, Stoler M, Broker T R, Stanley M A. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. *Vaccine* 2012. Volume 30, Supplement 5, Pages F55-F70. DOI: [10.1016/j.vaccine.2012.06.083](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.06.083).
- \_\_\_\_\_ The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol*, 2005. 32 Suppl 1:S7-15.
- Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*. 2004 May 27;429(6990):457-63.
- Feinberg A P. Cancer epigenetics take center stage. *PNAS*. 2001;98(2):392-94.
- FEINBERG, A. P.; TYCKO, B. A história da epigenética do câncer. *Nat Rev Cancer*, v. 4, n. 2, p. 143-53, Feb 2004.
- FLORIN, L; SAPP, C; STREECK RE, Sapp M. Assembly and translocation of papillomavirus capsid proteins. *J Virol* 2002; 76:10009-14.
- FRAGA, M. F. Epigenetics differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 102, p. 10604-10609, 2005.
- FUKS F. Metilação de DNA e modificações de histona: unindo-se a silenciar genes. *Curr Opin Genet Dev*. 2005 Out; 15(5):490-5.
- Gartel AL, Kandel ES. miRNAs: Mediadores pouco conhecidos da oncogênese. *Semin Cancer Biol*, 2008.

- GEBERT C, Wrenzycki C, Herrmann D, Groger D, Thiel J, Reinhardt R, Lehrach H, Hajkova P, LucasHahn A, Carnwath JW, Niemann H. DNA methylation in the IGF2 intragenic DMR is re established in a sexspecific manner in bovine blastocysts after somatic cloning. *Genomics*, v.94, p.63-69, 2009.
- GONZALO S. Epigenetic alterations in aging. *J Appl Physiol* 2010;109:586-97. 2010.
- HA, T. Y. MicroRNAs em doenças humanas: de doenças do pulmão, fígado e rins a doenças infecciosas, doença falciforme e doença do endométrio . *Immune Network*, v. 11, n. 6, p. 309, 2011.
- HINSHELWOOD, R; CLARK, S. Breast cancer epigenetics: Normal human mammary epithelial cells as a model system. *Journal of molecular medicine*, 86(12):1315-28. 2008.
- HONEGGER, A. SCHILLING, D; BASTIAN, S; et al. Dependence of intracellular and exosomal microRNAs on viral E6/E7 oncogene expression in HPV-positive tumor cells. *PLoS Pathog.* 2015;11(3):e1004712.
- HUANG Y, Song H, Hu H, Cui L, You C, HUANG L. Trichosanthin inhibits DNA methyltransferase and restores methylation-silenced gene expression in human cervical cancer cells. *Molecular Medicine Reports*. 2012;6(4):872-878.
- IACOBUZIO-DONAHUE, C. A. Epigenetic changes in cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, Palo Alto, v. 4, p. 229-249, 2009.
- INCA, Instituto Nacional do Câncer, CONCEITO E MAGNITUDE, 2020.
- JS, Kang JK, Lee JC, Lee SH, Jeon YYJ, et al. Histone deacetylase inhibitor apicidin downregulates DNA methyltransferase 1 expression and induces repressive histone modifications via recruitment of corepressor complex to promoter region in human cervix cancer cells, *Oncogene*. 2008; 27(10):1376-1386.
- Kedhari S M, Hussain A, Haque S, Raina R, Afroze N. Quercetin modifies 5'CpG promoter methylation and reactivates various tumor suppressor genes by modulating epigenetic marks in human cervical cancer cells. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2019.
- KOUZARIDES, T. Chromatin modifications and their function. *Cell*, Cambridge, v. 128, p. 693-705, 2007.
- KOZAKI K, Imoto I, Mogi S, Omura K, Inazawa J. Exploração de MicroRNAs supressores de tumor silenciados por hipermetilação de DNA no câncer oral. *Cancer Res*, 2008.
- LEHRMANN, H.; PRITCHARD, L. L.; HAREL-BELLAN, A. Histona acetiltransferases e desacetilases no controle da proliferação e diferenciação celular. *Adv Cancer Res*, v. 86, p. 41-65, 2002.
- LETO, Maria das Graças Pereira et al . Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro , v. 86, n. 2, p. 306-317, 2011.
- LI Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, et al. Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients*. 2016;8(3):167.
- LISTER R, Pelizzola M, Downen R H, Hawkins D, Hon G, Tontifilippini J, Nery R J, Lee L, Ye Z, Ngo Q, Edsall L, Antosiewicz-Bourget J, Stewart R, Ruotti V, Millar H A, Thomson A J, Ren B, Eckere R J. Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature*, v.462, p.315-322, 2009.
- LU, X., Liu, S., Kornberg, T.B. (2006). The C-terminal tail of the Hedgehog receptor Patched regulates both localization and turnover. [Genes Dev. 20\(18\): 2539-2551.](#)
- Martel, C., et al., Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *The Lancet Oncology*, 2012.

Marjorie Cardoso Picanço, Jaily e Silva Rosa, Paula Ramos Batista, Alicia Saraiva Barroso, Thiago Costa Barbosa, Nayara Sousa Castro- **Mecanismos Epigenéticos envolvidos na carcinogênese cervical mediada pelo HPV16: uma revisão**

---

- McCABE M.T., Davis J.N., Day M.L. Regulação do DNA metiltransferase 1 pela via pRb/E2F1. *Câncer Res.* 2005; 65:3624-3632.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Guia prático sobre HPV: perguntas e respostas. Brasília, 2015. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/dezembro/07/Perguntas-e-respostas-HPV-.pdf>>. Acesso em: 01 de julho de 2020.
- Montanher A P, Boda M, Ribeiro Neto L M. Epigenética- Alterações induzidas por agentes químicos. III Simpósio de Assistência Farmacêutica, 2015.
- MOSS, T. J.; WALLRATH, L. L. Connections between epigenetic gene silencing and human disease. *Mutation Research, Amsterdam*, v. 618, p. 163-174, 2007.
- OGISHIMA, T.; SHIINA, H.; BREAUULT, J. E.; TABATABAI, L.; BASSETT, W. W.; ENOKIDA, H.; LI, L. C.; KAWAKAMI, T.; URAKAMI, S.; RIBEIRO-FILHO, L. A.; TERASHIMA, M.; FUJIME, M.; IGAWA, M.; DAHIYA, R. Increased heparanase expression. is caused by promoter hypomethylation and up-regulation of transcriptional factor early growth response-1 in human prostate cancer. *Clin Cancer Res*, v. 11, n. 3, p. 1028-1036, 1 Feb., 2005.
- OLIVEIRA NFP, Planello AC, Andia DC, Pardo APS. Metilação de DNA e câncer. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 56, n. 4, p. 493-499. 2010.
- ORDWAY JM, Fenster SD, Ruan H, Curran T. Um mapa transcriptome de transformação celular pelos fos oncogene. *Câncer de Mol.* 26 de maio de 2005; 4(1):19.
- PARKIM DM. Global cancer statistics in year 2000. *Lancet Oncol* 2001; 2:533-43.
- Rivoltini L, Chiodoni C, Squarcina P, Tortoreto M, Villa A, Vergani B, Bürdek M, Botti L, Arioli I, Cova A, Mauri G, Vergani E, Bianchi B, Della Mina P, Cantone L, Bollati V, Zaffaroni N, Gianni AM, Colombo MP, Huber V. TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL)-Armed Exosomes Deliver Proapoptotic Signals to Tumor Site. *Clin Cancer Res.* 2016 Jul 15;22(14):3499-512.
- ROACH, H. I.; BRONNER, F.; OREFFO, R. O. Epigenética aspecto das doenças crônicas, Springer-Verlang London Limited, 2011.
- RODENHISER D, Mann M. Epigenetics and human disease: translating basic biology into clinical applications. *CAMJ.* 2006;174(3):341-48.
- ROSA M I, Medeiros L R, Rosa D D, Bozzeti M C, Silva F R, Silva B R. Papilomavirus Humano e Neoplasia Cervical. Scielo 2009.
- ROTHHAMMER T, Bosserhoff A K. Epigenetic events in malignant melanoma. *Pigment Cell Res.* 2007;20:92-111.
- SARTOR MA, Dolinoy DC, Jones TR, Colacino JA, Prince ME, Carey TE et al. As diferenças de metilação e expressão em todo o genoma nas linhas celulares escamosas do HPV(+) e HPV(-) são consistentes com mecanismos divergentes de carcinogênese. *Epigenética.* 2011;6(6):777-787
- SASSEN S, Miska EA, Caldas C. MicroRNA - implicações para o câncer. *Virchows Arch*, 2008.
- SATO, N.; MAITRA, A.; FUKUSHIMA, N.; VAN HEEK, N. T.; MATSUBAYASHI, H.; IACOBUZIO-DONAHUE, C. A.; ROSTY, C.; GOGGINS, M. Frequent hypomethylation of multiple genes overexpressed in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Res*, v. 63, n. 14, p. 4158-4166, 15 Jul., 2003.
- SAWADA M, Kanai Y, Arai E, Ushijima S, Ojima H, Hirohashi S. Aumento da expressão de DNA metiltransferase 1 (DNMT1) proteína em carcinoma de células escamosas de colo uterino e sua lesão precursora. *Cartas de Câncer.* 2007;251(2):211-219

- SONG Y, Zhang C. Hydralazine inhibits human de cervical câncer cell growth in vitro in association with APC demethylation and re-expression. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2009; 63(4):605-613.
- SOTO D, Song C, McLaughlin-Drubin ME. Epigenetic Alterations in Human Papillomavirus-Associated Cancers. *Viruses* 2017
- STERLING, JC. Viral infections. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiyths C, ed. *Textbook of Dermatology*. 7 ed. Oxford: Blackwell Science; 2004. p. 25.37- 60.
- STRICHMAN-ALMASHANU, L. Z. A genome-wide screen for normally methylated human CgG islands that can identify novel imprinted genes. *Genome Res*, v. 12, n. 4, p. 543-554, Apr., 2002.
- SZYF, M.; PAKNESHAN, P.; RABBANI, S. A. DNA methylation and breast cancer. *Biochemistry & Pharmacology*, Los Angelis, v. 68, p. 1187-1197, 2004.
- Valencia-Sanchez MA, Liu J, Hannon GJ, Parker R. Controle da tradução e degradação do mRNA por miRNAs e siRNAs . *Genes Dev* 2006.
- VRBA L, Muñoz-Rodríguez JL, Stampfer MR, Futscher BW. miRNA gene promoters are frequent targets of aberrant DNA methylation in human breast cancer. *PLoS One*. 2013;8(1):e54398.
- WALD, A.I., et al., Alteration of microRNA profiles in squamous cell carcinoma of the head and neck cell lines by human papillomavirus. *Head Neck*, 2011. 33(4): p. 504-12.
- YAO T; Lin Z. MIR-21 is involved in cervical squamous cell tumorigenesis and regulates CCL20. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. v. 1822, p 248-260, 2012.
- ZAMBRANO P. et al. A phase I study of hydralazine to demethylate and reactivate the expression of tumor suppressor genes. *BMC Cancer*. 2005; 5:44
- Zhang W, Dahlberg JE, Tam W. MicroRNAs na tumorigênese: um primer. *Am J Pathol*, 2007.