



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA**

***Análises in silico* do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) da versão atualizada do MIR137HG que caracteriza a homozigose (T/T) em pacientes esquizofrênicos.**

NATAL - RN 2016

Stephany Campanelli Esmaille

Monografia Apresentada à Coordenação do Curso de Biomedicina da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como Requisito Parcial à Obtenção do Título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Profº Drº Carlos Alfredo Galindo Blaha

NATAL - RN 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE BIOMEDICINA

Análises *in silico* do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) da versão atualizada do MIR137HG que caracteriza a homozigose (T/T) em pacientes esquizofrênicos.

Elaborada por **Stephany Campanelli Esmale** e aprovada por todos os membros da Banca examinadora foi aceita pelo Curso de Biomedicina e homologada pelos membros da banca, como requisito parcial à obtenção do título de **BACHAREL EM BIOMEDICINA**.

Natal, 05 Dezembro de 2016

BANCA EXAMINADORA:

Nome do Orientador: **Carlos Alfredo Galindo Blaha**
(Departamento de Biologia Molecular)

Nome do Examinador 1: **Eduardo Bouth Sequerra**
(Instituto do Cérebro)

Nome do Examinador 2: **Jonas Ivan Nobre Oliveira**
(Departamento de Biofísica)

FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial do Centro de Biociências -
CB

Campanelli, Stephany Esmaille.

Análises in silico do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) da versão atualizada do MIR137HG que caracteriza a homozigose (T/T) em pacientes esquizofrênicos / Stephany Campanelli Esmaille. - Natal, 2016. 113 f.: il.

Graduação (Monografia) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Graduação em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Galindo Blaha.

1. Esquizofrenia - Monografia. 2. miR-137 - Monografia. 3. MIR137HG - Monografia. 4. Neurogênese adulta - Monografia. 5. Bioinformática - Monografia. I. Blaha, Carlos Alfredo Galindo. II. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. III. Título.

RN/UF/BSE-CB

CDU 616.895.8

AGRADECIMENTOS

Sou imensamente grata pelas sugestões e pelo incentivo do Professor Dr. Carlos Alfredo Galindo Blaha e do Dr. Bruno Gomes Sousa.

RESUMO

Os microRNAs são RNAs não-codantes de versátil regulação epigenética, transcricional e traducional. Muitos estão envolvidos, seja por superexpressão ou repressão, em etapas cruciais da diferenciação celular, cânceres, transtornos metabólicos e psiquiátricos. Um microRNA chamado miR-137 vem se destacando por ter sua expressão majoritariamente reprimida em diversos cânceres, por estimular a diferenciação celular de células-tronco neurais em cérebro adulto e por ter uma variante com SNP (*single nucleotide polymorphism*) na sua região genômica MIR137HG diretamente associada ao agravamento dos sintomas da esquizofrenia quando em homozigose (T/T) e à redução da expressão do gene miR-137. Entretanto, dados *in silico* dessa região atualmente se encontram escassos e praticamente não há evidências e hipóteses acerca de alterações das características moleculares dessa porção do DNA com e sem SNP. Com base em predições *in silico* da região do gene humano MIR137HG, os resultados obtidos indicam que a presença de um fator de transcrição, PBX1, somente ocorrente na sequência com SNP, possivelmente se associa com a repressão na expressão do gene miR-137 nos casos graves de esquizofrenia por homozigose T/T.

Palavras-chave: MIR137HG. miR-137. Neurogênese adulta. Esquizofrenia.

ABSTRACT

MicroRNAs are non-coding RNAs with versatile epigenetic, transcriptional and translational regulation. Many of them are involved, whether by being overexpressed or repressed, in crucial stages of cell differentiation, cancer, metabolic and psychiatric disorders. A microRNA called miR-137 seems to have its expression mostly repressed in several cancers, to stimulate cell differentiation of neural stem cells in adult brain and to have a variant with SNP (single nucleotide polymorphism) in its genomic region MIR137HG directly associated with worsening of symptoms of schizophrenia when in homozygous (T/T) and with reduction of miR-137 gene expression. However, data in silico of this region are currently scarce and evidence and/or assumptions about changes in molecular features of this region with and without SNP are lacking. Based on in silico predictions of human MIR137HG, results indicate that the presence of a transcription factor, PBX1, occurring only in sequence with SNP, is possibly associated with suppression miR-137 gene expression in cases of worse symptoms of schizophrenia by homozygous T/T.

Keywords: MIR137HG. miR-137. Adult Neurogenesis.

Schizophrenia.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 REVISÃO LITERÁRIA	10
2.1 MicroRNAs	10
2.1.1 Síntese.....	11
2.1.1.1 Via canônica	12
2.1.1.2 Via não-canônica	13
2.1.2 Dinâmica e função.....	15
2.1.3 Degradação	17
2.1.4 Terapêutica	18
2.2 Neurogênese adulta	23
2.2.1 Ação de drogas	30
2.2.2 Hipocampal	31
2.2.2.1 Oscilações e o sono	36
2.2.2.2 Estresse	38
2.2.3 Subventricular	44
2.3 Esquizofrenia (SZ)	45
2.3.1 Descrição	45
2.3.2 Tratamento	49
2.3.3 Epidemiologia	51
2.4 miR-37	55
2.4.1 miR-137 e cânceres	56
2.4.2 miR-137 e a neurogênese.....	57
2.4.3 miR-137 e a SZ.....	58
2.5 Bioinformática	60
2.5.1 Definição e evolução	60
2.5.2 Ferramentas	61
2.5.3 Bioética	68
3 OBJETIVOS	70
4 MATERIAIS E MÉTODOS	71
5 RESULTADOS	73
6 DISCUSSÃO	89
7 CONCLUSÃO	95
8 PERSPECTIVAS	96
9 REFERÊNCIAS	97

1 INTRODUÇÃO

A presente monografia pincela em sua revisão literária um panorama que abrange temas como “microRNAs”, “neurogênese adulta”, “esquizofrenia” e “análises *in silico*”, todos interligados por um microrna chamado miR-137. Após essa leitura introdutória, o(a) leitor(a) poderá ter o embasamento mínimo e compreensão da relevância dessa macromolécula no âmbito da Biologia Molecular, Genética e Neurociência, assim como a importância do uso de ferramentas de Bioinformática para gerar previsões a respeito, por exemplo, do seu precursor, MIR137HG, presente no braço pequeno do cromossomo 1 de sub-banda 3 da primeira banda da região 2 do Genoma Humano.

Através de análises detalhadas sobre seu precursor, é possível deduzir mecanismos regulatórios da expressão do miR-137, notoriamente reprimida em esquizofrênicos portadores de alelos T/T (com polimorfismo rs1625579) e envolvida com alterações a nível sináptico, mas não a nível de volume hipocampal nos cérebros desses pacientes (QUEDNOW, 2014; LIU, B., 2014; PATEL, 2015). O hipocampo por sua vez não só é palco da criação de novos neurônios que contribuem para a plasticidade cerebral, qualidade do sono e consolidação de memórias e aprendizado (WANG, 2015) como também se associa ao sistema límbico através do núcleo accumbens, sistema este que possui alterações consideráveis em cérebros esquizofrênicos por desregulação dopaminérgica (ADINOFF, 2004).

Diante dessas justificativas, esse trabalho visa gerar uma hipótese a respeito de como, a nível molecular, uma mutação homozigótica por transversão (AL- TASSAN, 2002) de guanina por timina, que caracteriza o polimorfismo rs1625579, é capaz de interferir na síntese do microrna miR-137 humano.

2 REVISÃO LITERÁRIA

2.1 MicroRNAs

MicroRNAs ou miRNAs são pequenos RNAs de fita simples constituídos de 21-23 nucleotídeos de extensão (LI, 2014) pertencentes da família dos RNA não-codantes (ncRNAs), os quais correspondem à 98% de toda expressão gênica de um indivíduo (ALEXANDER, 2010).

Tais moléculas se ligam nas regiões 3' não- traduzidas (3' *UTRs*) de seus alvos os quais podem ser genes (DNA) ou RNAs mensageiros (mRNA) (EKIMLER, 2014). MicroRNAs podem ser representados por 1.000-30.000 cópias/célula e regular centenas, milhares ou mais mRNAs-alvo, os quais tipicamente chegam a menos que 100 cópias/célula (NELSON, 2007). No Reino Animal, o emparelhamento entre um miRNA e a 3'UTR de seu alvo ocorre entre o segundo e o sétimo nucleotídeo da sua região 5', chamada de região de semeadura ou *seed region* (EKIMLER, 2014) e a eficiência da ação do miRNA depende dessa complementaridade sendo na maioria das vezes de natureza inibitória, reprimindo a transcrição e induzindo a degradação do mRNA. Porém existem evidências que eles também estimulam a expressão gênica e a tradução (EKIMLER, 2014; NELSON, 2007).

MicroRNAs podem intensificar a tradução de genes em células quiescentes/na fase G0 do ciclo celular através da interação da proteína FXR1 com a Ago2, o que normalmente não ocorre quando estão entre as fases G1 e M (em que a célula se prepara e efetua a mitose) (RUSK, 2011).

Mesmo que a ligação na *seed region* seja muito forte, ligações menos intensas podem ocorrer, criando uma variedade de efeitos dos miRNAs nos seus mRNAs- alvos (EKIMLER, 2014). Pequenas modificações da expressão de microRNAs têm sido associadas a uma variedade de distúrbios neurológicos valendo salientar que tais moléculas são cruciais para uma dendritogênese e plasticidade sináptica adequadas durante a vida adulta (VOLVERT, 2012).

2.1.1 Síntese

MiRNAs são gerados de um processo gradual que pode ser canônico (dependente de Drosha/Dgcr8) ou não-canônico (independente de Drosha/Dgcr8). Em ambas, os pre-miRNAs gerados são exportados para o citoplasma pelo fator de transporte núcleo-citoplasmático, Exportin-5. Uma vez no citoplasma, pre-miRNAs são clivados por uma RNase III chamada Dicer que gera um duplex imperfeito (forma de grampo), característico do miRNA maduro que dependendo do caso tem a região 5' ou 3' fosforilada. Depois disso, o miRNA se une à proteína Argonaute (Ago) para ser carregado até o complexo de silenciamento induzido de RNA (RISC) o qual guia a ligação da *seed region* do miRNA à região de afinidade do seu mRNA-alvo. MiRNAs são reguladores de ajustes finos de expressão gênica devido ao específico padrão de expressão espaço-temporal que permite sua atuação em um amplo espectro de processos biológicos (MEZA-SOSA, 2014).

Além disso, alguns lncRNAs podem ser precursores de RNAs pequenos (incluindo miRNAs), interagir com outros RNAs pequenos afetando a expressão gênica (QUAN, 2015) e regular a transcrição de múltiplos genes-alvos por modificações epigenéticas (CAO, 2014). lncRNAs possuem pelo menos 200 pares de base, sendo produzidos em sua maior parte em regiões intergênicas. Também podem ser localizados perto de regiões codantes (genes que serão transcritos em mRNA) o que implica em serem co-regulados.

No cérebro, lncRNAs são altamente expressos, dinamicamente regulados e desempenham papel modulador na neurogênese (formação de novos neurônios), diferenciação, maturação, mielinização, transmissão GABAérgica e na plasticidade sináptica por controlarem a síntese local de proteínas a nível de densidade pós-sináptica (PSD). Tais processos estão envolvidos com desordens de desenvolvimento neurológico, no qual a Esquizofrenia se enquadra. (MILLAN, 2011).

2.1.1.1 Via canônica

A via de biogênese canônica de miRNAs começa com a transcrição de genes endógenos de miRNAs pela RNA polimerase II, dando origem aos transcritos primários conhecidos como pri-miRNAs que podem ter um tamanho de centenas à milhares pares de base. Trata-se de estruturas em grampo com várias protuberâncias e ausência de complementariedade (*mismatches*) (EKIMLER, 2014).

Em seguida, os pri-RNAs são processados no núcleo por um complexo constituído pela enzima Drosha (uma RNase de tipo III) e pela proteína Dgcr8 (*DiGeorge syndrome critical region gene 8*) que cliva o pri-RNA originando o pre-miRNA de aproximadamente 70 pares de base (bp). Dessa etapa em diante, ocorrerá a continuação do processo de maturação do miRNA como já foi descrito no tópico acima (MEZA-SOSA, 2014).

2.1.1.2 Via não-canônica

Pre-miRNAs também podem ser gerados pela via não-canônica que ocorre quando um gene de um miRNA está embebido dentro de uma região intrônica de um gene codante. Quando miRNAs são gerados a partir desses loci, são chamados de mirtrons. Estes por sua vez são formados a partir de regiões intrônicas de seus genes hospedeiros quando estes são transcritos. Tais sequências, com potencial de formar estrutura em grampo (*hairpin*), entram na via não-canônica, sendo emendados como laços (sua região 3' é ligada ao término da região 5'). Em seguida, a enzima LDBR (*lariat debranching enzyme*) formará pequenos pre-miRNAs abrindo os laços antes existentes (MEZA-SOSA, 2014; WESTHOLM, 2011).

Os mirtrons podem ser classificados em três grupos: Os que são estritamente regulados pelo seu gene hospedeiro, os que usam o mesmo promotor que seu gene hospedeiro porém são regulados por outros miRNAs e os que interagem com promotores completamente distintos de seu gene hospedeiro (EKIMLER, 2014). Ver figura 1.

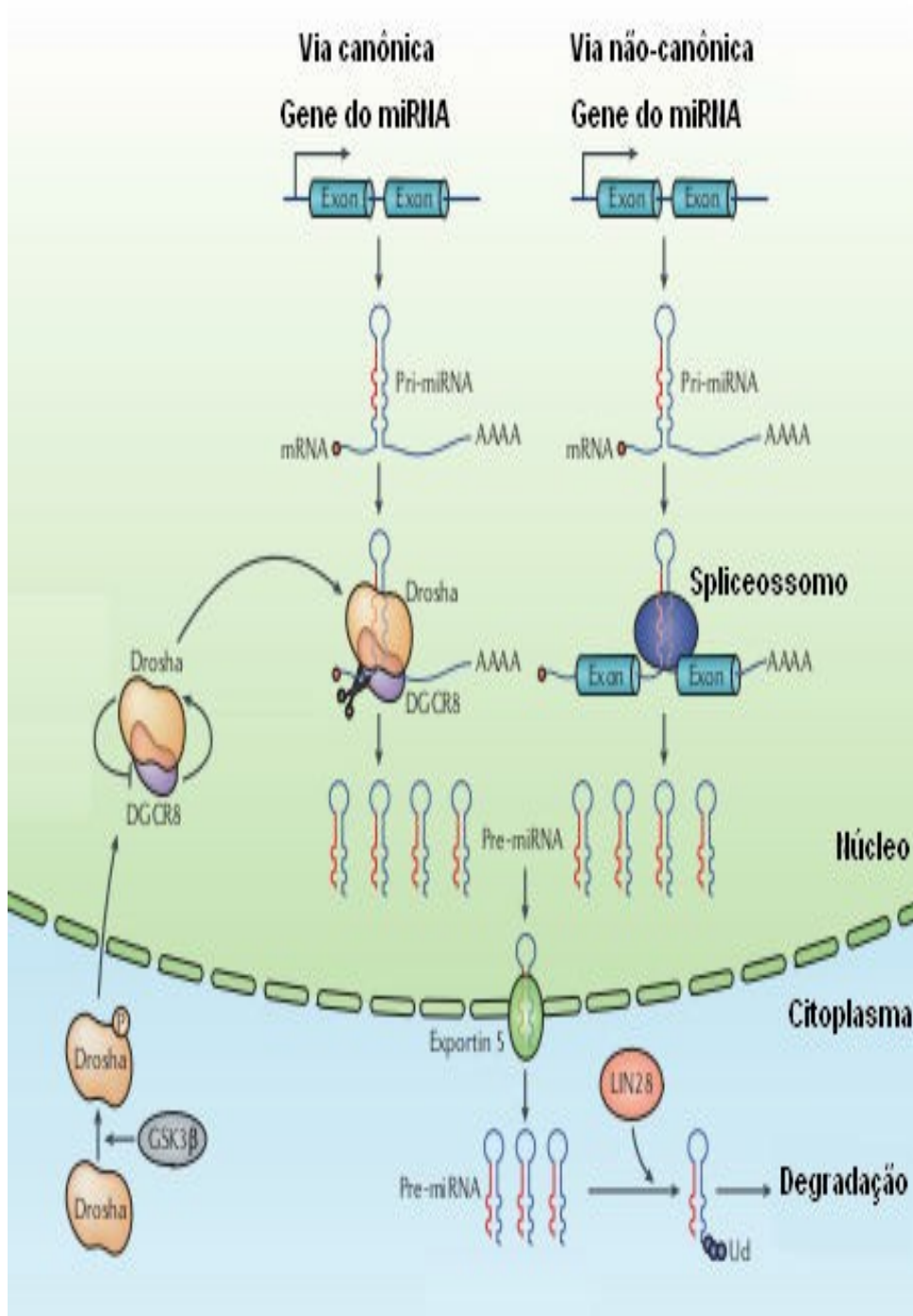


Figura 1: Comparação entre as vias canônica e não-canônica da síntese de microRNAs até a etapa de formação do pré-miRNA. LIN28 auxilia na degradação deste por uridilação, antes da formação do microRNA maduro pela Dicer e Ago2. Fonte: Adaptado de LI, 2014.

2.1.2 Dinâmica e função

MicroRNAs são moléculas altamente dinâmicas com velocidade e reversibilidade de regulação consideráveis, quando comparadas com fatores de transcrição (TFs). A região regulatória gênica de alvos de TFs é frequentemente complexa e pode alcançar dezenas de kilobases (kb) enquanto que 3'UTRs (regiões 3' não traduzidas) controlados por miRNA são, em média, <1kb em tamanho. Logo a atuação de miRNAs é bem mais pontual quando comparada com TFs, além de mais conservada evolutivamente (Hobert, 2008). Devido a sua natureza não-codante e seu pequeno tamanho, miRNAs podem ser produzidos mais rapidamente que TFs, e um alvo de um miRNA reprimido pode ser mais rapidamente re-ativado que um de um TF. Pode-se então supor que miRNAs atuem à nível sináptico devido a sua estrutura dinâmica (Hobert, 2008). MiRNAs e TFs também possuem pontos em comum, como por exemplo a necessidade de um complexo que os reconheça estabilizando-os para que a ligação com sua *seed region* ocorra eficientemente.

Fatores de transcrição necessitam do posicionamento correto do nucleossomo no local de reconhecimento para se ligarem a sua região-alvo no DNA. Analogamente, a acessibilidade de um local de reconhecimento de um miRNA é controlada por um membro de uma grande família do domínio RRM (*RNA Recognition Motif*) a qual contém proteínas ligadoras de RNA.

Além dessas proteínas, tal reconhecimento é influenciado pelo dobramento da sequência do mRNA- alvo em estrutura secundária (Hobert, 2008). Outro ponto em comum é a regulação de TFs na síntese de miRNAs: Em diferentes estágio de processamento, pri-miRNAs e pre-miRNAs podem se submeter a catálise mediada por adenosina-deaminase, enzima regulada por TFs, resultando em um miRNA anormal (BEVERIDGE, 2011). A função mais bem conhecida dos microRNAs se baseia na ligação deles aos “complexos de silenciamento induzidos por microRNAs” (miRISCs), que juntos inibem a tradução e promovem a degradação do alvo, normalmente um RNA mensageiro.

Tal degradação ocorre através da via de decaimento 5' para 3' do mRNA, quando, após redução da cauda poli A (deadenilação), a remoção da estrutura “5'cap” (*decapping*) leva a um decaimento irreversível do corpo do mRNA. miRISCs intensificam a associação do DCP1, Me31B e HPat (ativadores do *decapping*) nos alvos dos miRNAs de uma forma dependente de tais miRNAs. Há evidências na literatura científica de que mRNAs imunes a deadenilação são degradados por *decapping* na presença de miRNAs o que dá indícios de que miRISCs podem promover *decapping* independentemente da deadenilação. Em condições de estresse celular, DCP1 e DCP2 são hiperfosforilados e, durante a mitose, DCP1 é hiperfosforilado. Nessas circunstâncias um conjunto de mRNAs são estabilizados, sugerindo que a fosforilação de CDP1 e DCP2 inibem o *decapping*.

Contrariamente a deadenilação, o *decapping* irreversivelmente inibe a iniciação da tradução e leva a degradação completa do mRNA. Logo, o *decapping* previne o silenciamento reversível (dinâmico) mediado por miRNAs. Entretanto, alguns mRNAs aparentam ser liberados da repressão mediada por miRNAs em resposta a sinalizações extracelulares, sugerindo que o *decapping* é de alguma forma bloqueado para esses alvos permitindo assim que tenham uma repressão reversível (que não sofram *decapping*). Uma suposição para isso seria que proteínas associadas aos mRNAs, por exemplo o fator eIF4E, bloqueiem o *decapping* por impedir o acesso de DCP2 na região 5' do mRNA. Além da proteína citada, VCX-A protein, YB-1, Y14 e DmCUP são outros exemplos que possivelmente desempenham uma relevante função no controle da reversibilidade do silenciamento (NISHIHARA, 2013). Além da atuação direta no mRNA à nível traducional, miRNAs destacam-se a alteração do splicing de mRNAs, a metilação de DNA e modificações de histonas, podendo estes dois últimos citados também modular os miRNAs (CANANI, 2011). Além disso, miRNAs podem reconhecer mRNAs fora da 3'UTR, possibilitando uma variedade de regulações de expressão gênica (NELSON, 2007).

2.1.3 Degradação

A taxa de *turnover* dos miRNAs é alta assim como sua meia-vida sendo influenciada pela sequência nucleotídica, pela mediação do seu alvo, pelo status de uridilação (adição do grupo uracil) e por infecção viral (BASAK, 2015).

Para que a degradação ocorra, o miRNA deve ser primeiro liberado do complexo miRISC permitindo assim que uma exorribonuclease chamada XRN-2 se ligue a ele, o que não ocorrerá se tal miRNA estiver ligado ao seu mRNA-alvo (TAL, 2012). Sob condições específicas, altas concentrações do RNA-alvo complementar ao miRNA podem desencadear a degradação do miRNA por um mecanismo que envolve adição de nucleotídeos e a degradação exonucleolítica que ocorre naturalmente durante uma infecção viral.

Um dos melhores exemplos descritos de regulação negativa da biogênese de miRNA envolve a proteína LIN28 que reduz a atividade de clivagem de ambos Drosha e Dicer. LIN28 também recruta a Terminal- Uridylyl-Transferase TUT4 / TUT7, que uridila o pré- miRNA levando a sua degradação subsequente pela exonuclease DIS3L2 (HAAS, 2016).

2.1.4 Terapêutica

MiRNAs têm sido frequentemente considerados biomarcadores e alvos terapêuticos em potencial (SUN, 2014). O perfil de expressão de miRNAs que desempenham um papel no início de determinadas doenças pode ser detectado em fluidos corporais como plasma, líquido cefalorraquidiano e urina usando técnicas de laboratório como PCR (qRT-PCR), *microarrays*, *Deep sequencing*, técnicas de imunensaio (GIAU, 2015) como a imunoprecipitação e detecção/quantificação de exossomos de miRNAs (BASAK, 2015).

Dessa forma, miRNAs podem ser biomarcadores precoces, auxiliando no prognóstico de patologias como por exemplo diversos cânceres, doenças autoimunes, infecções virais, distúrbios metabólicos e transtornos psiquiátricos. Sobre as técnicas citadas, a imunoprecipitação normalmente é feita com o intuito de identificar o par de miRNA com seu alvo.

Para isso, se precipita todo o complexo miRISC com o mRNA (BASAK, 2015). Já as técnicas *Deep sequencing*, *Microarrays* e PCR (qRT-PCR) se baseiam em leitura de bases nucleotídicas de um determinado miRNA (GIT, 2010). Exossomos possuem tamanho que varia entre 30 e 100 nanômetros e estão envolvidos em respostas imunes, apresentação de antígenos, comunicação intracelular por transcitose e transferência de RNA e proteínas. Podem ser secretados por diversas células como mastócitos, células dendríticas, reticulócitos, células epiteliais, linfócitos B e neurônios, sendo encontrados no sangue, urina, plasma, leite materno, fluido de lavagem broncoalveolar, fluido amniótico tanto em condições normais quanto patológicas e explorados por príons e vírus para intensificar a disseminação viral (VAN GIAU, 2015).

Com relação aos exossomos que contêm miRNAs, estes podem desempenhar um papel importante na progressão de doenças além de estimular a angiogênese, facilitando a metástase de células cancerígenas dependendo do microRNA em questão (ZHANG, 2015).

O método mais comum de purificação de exossomos envolve séries de centrifugações para remover os detritos celulares seguidas por uma ultracentrifugação de alta velocidade para sedimentá-los. Tal detecção pode servir como prognóstico principalmente de cânceres (VAN GIAU, 2015). O exossomo é inicialmente formado por endocitose, sendo chamado de endossoma, onde várias vesículas pequenas antes presentes no citoplasma se inserem, formando o corpo multivesicular (MVB). Quando ele sai da célula, por se fundir com a membrana celular, é chamado de exossomo. Alguns podem se fundir com lisossomos devido à sinalizações intracelulares, o que implica em sua digestão/degradação (ZHANG, 2015).

No quesito terapêutica, algumas estratégias de inibição de miRNAs têm sido propostas com o uso de esponjas de miRNA (*miRNA sponges*), oligonucleotídeos *antisense* e pequenas moléculas, como o azobenzeno (ver figura 2). Porém, os desafios dessa vertente são consideravelmente maiores.

Primeiro que não se têm na literatura um mapa completo de interações de um miRNA específico para se saber os efeitos colaterais de uma possível inibição visto que são moléculas capazes de regular diversos genes a nível epigenético, mRNAs a nível de *splicing* e a nível traducional.

Segundo que não se sabe quais os possíveis mecanismos de resistência à drogas anti-miRNA com base oligonucleotídica.

Terceiro que ainda não se sabe quais seriam as interações farmacológicas entre as moléculas silenciadoras de miRNAs citadas e outros fármacos os quais podem ser administrados concomitantemente o que eventualmente pode levar a um efeito potencializador ou inibidor entre si.

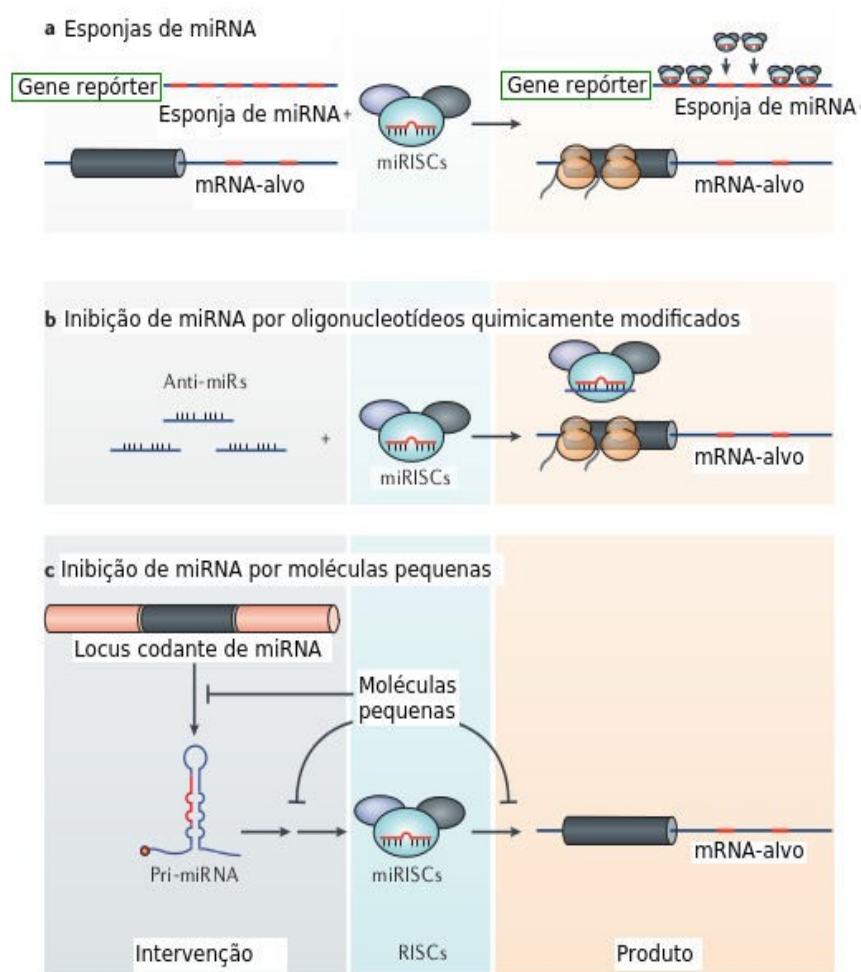


Figura 2: Estratégias de inibição da função de microRNAs. a) Esponjas de microRNAs são sequência complementares que se ligam ao microRNA-alvo impedindo que este se ligue ao seu complexo RISC. b) Oligonucleotídeos atuam da mesma forma porém no próprio complexo miRISC. c) Moléculas pequenas como azobenzeno podem se ligar tanto ao pri-miRNA quanto no pré-miRNA ou no miRNA maduro já em seu complexo RISC. Fonte: Adaptado de LI, 2014.

Quarto que os veículos de entrega do fármaco, em especial exossomos, ainda estão a ser estudados para que sejam tecido-específicos e de preferência administrados via oral, o que seria um avanço clínico considerável principalmente para pacientes rotineiros não se submeterem diversas vezes ao tratamento via subcutânea e intravenosa. Logo, o tempo de evolução e aperfeiçoamento dessa terapia gênica certamente deverá de ser maior até chegar ao nível industrial quando comparado com o uso de biomarcadores no prognóstico de doenças, que por sinal também poderão ser usados para avaliar o andamento dessa futura terapia gênica por modulação de miRNAs (LI, 2014). Vale salientar que somente grandes mudanças possuem tantos desafios e ainda assim muitos motivos para superá-los. Alguns estudos recentes de Esclerose Lateral Amiotrófica têm mostrado que oligonucleotídeos e miRNAs podem atravessar a barreira hematoencefálica (BASAK, 2015), a qual é altamente impermeável e seleta. Isso significa que o avanço dessa terapia promissora pode ser um dos pouquíssimos meios de tratar acometimentos no sistema nervoso central.

Adicionalmente, análises bioinformáticas revelaram que miRNAs estão envolvidos na inflamação após injúria da medula espinal (SCI) e poderiam ser utilizadas como alvos terapêuticos, bem como biomarcadores do processo patológico da SCI (DONG, 2014). Sobre os métodos citados, microRNA “esponja” (*miRNA sponge*) foi criado para gerar perda contínua de função de miRNA em linhagens celulares e organismos transgênicos.

Tais esponjas contêm locais de ligação complementares aos miRNAs de interesse (se ligam às *seed regions*) e são produzidas a partir de transgenes dentro das células. Dessa forma, estando ligados a essas esponjas, os miRNAs não se ligam aos seus reais alvos sendo possível observar os danos pela ausência da função do miRNA estudado e conseqüentemente a importância de sua função (EBERT, 2010). Já os oligonucleotídeos de fita antissense (ASOs) agem diretamente no complexo miRISC, desestabilizando-o e assim inibindo a sua função (LI, 2014).

2.2 Neurogênese adulta

Há mais de vinte anos estudos têm mostrado que os neurônios gerados no giro denteado (DG) do hipocampo em um cérebro maduro/adulto possuem um papel importante nas funções de memória e aprendizado dependentes de hipocampo enquanto que novos interneurônios olfatórios derivados da zona subventricular (SVZ) são requeridos para o funcionamento normal da rede do bulbo olfatório e alguns comportamentos olfativos específicos. As células geradas se tornam neurônios funcionais que participam da função de rede neural. Vale salientar que a taxa neurogênica do cérebro adulto aumenta seguida de traumatismo cranioencefálico e tem um papel direto na recuperação funcional espontânea cognitiva observada após injúria cerebral (SUN, 2015; RYAN, 2015).

Sendo assim, o cérebro adulto possui o potencial inerente de restaurar populações de neurônios lesionados ou destruídos, o que possibilita o desenvolvimento de estratégias terapêuticas destinadas a aproveitar essa capacidade neurogênica endógena com o intuito de regenerar e reparar injúrias cerebrais (SUN, 2015).

Vale ressaltar que, apesar de em concentrações muito baixas ou em condições anormais, a neurogênese tem sido detectada por diversos grupos de pesquisa em outras regiões do cérebro como córtex, amígdala, hipotálamo e substância nigra (SCHIAVON, 2015). Alguns estudos sugerem que tanicitos beta são as principais células de proliferação no hipotálamo de camundongos adultos jovens, sendo eles os progenitores neurais apenas de uma específica região hipotalâmica chamada eminência média. Enquanto alguns cientistas defendem que a linhagem de tanicitos alfa se renova e se diferencia em novos tanicitos, astrócitos e neurônios, outros defendem que apenas tanicitos alfa da região dorsal são capazes de formar colônias de células-tronco neurais (neuroesferas), enquanto células parenquimais e tanicitos beta não. (ROJCZYK-GOLEBIEWSKA, 2014).

Outros estudos relataram a presença de neurogênese no hipotálamo, incluindo áreas contendo oxitocina e vasopressina (hormônios associados à cognição social) e neurogênese pós-natal no núcleo supra-óptico na região magnocelular e na região paraventricular (BAKOS, 2015).

Sobre a neurogênese cortical, há evidências em ratos e macacos que no córtex pré-frontal os novos neurônios são pequenos interneurônios e fazem parte de uma pequena fração de células recém-formadas nessa região, enquanto que em camundongos, a neurogênese adulta neocortical parece ser inexistente. A potencial contribuição da neurogênese adulta na amígdala e córtex pré-frontal tem sido ignorada provavelmente devido ao número baixo de neurônios formados, a natureza da dificuldade dos experimentos de neurogênese nessas regiões e a baixa qualidade de muitos dos dados resultantes. Apesar do número de neurônios produzidos nessas áreas ser baixo, a produção, mesmo que pequena, de interneurônios tende a ter efeitos funcionais (SCHOENFELD, 2014).

A neurogênese adulta é também promovida por fatores de crescimento e hormônios que diretamente induzem a geração de novos neurônios ou indiretamente promovem a sobrevivência neuronal (GARGANTINI, 2015) (ver tabela 1). Por exemplo, a serotonina, glicocorticoides, esteroides ovarianos e fatores de crescimento regulam finamente a resposta proliferativa de células-tronco neurais (NSCs) (SUN, 2015).

O neuropeptídeo Y (NPY) também tem mostrado um papel pró-neurogênico além de astrócitos, oligodendrócitos, micróglia e células endoteliais serem responsivos a ele.

Suas funções são feitas por ligação com receptores distintos de NPY acoplados a proteína G distribuídos em diferentes tecidos como cardíaco, adiposo, vascular, ósseo (atuando na rede neuro- osteogênica que regula a homeostase óssea) e cerebral (regulando o consumo de comida e homeostase energética). Além disso, está envolvido com mecanismos relacionados com o estresse e participa da ansiedade, processamento de memória e cognição. Adicionalmente, o NPY age como neuromodulador e promove a liberação de neurotransmissores como dopamina e glutamato, estando portanto em vias patofisiológicas de algumas desordens crônicas do SNC (DECRESSAC, 2012).

Tabela 1: Fatores regulatórios da neurogênese adulta

Fatores regulatórios	Implicações na neurogênese adulta	Possíveis mecanismos
Genética	Influencia a neurogênese na SGZ	—
Gênero	Proliferação celular na SGZ é maior em fêmeas	Níveis de hormônio ovariano (estrogênio)
Envelhecimento	Reduz proliferação celular na SVZ e SGZ	Aumenta níveis de corticosteroides
Hormônios		
Estrogênio	Estimula a neurogênese na SGZ	—
Corticosteroide	Reduz a neurogênese na SGZ	Ativação do eixo HPA
Prolactina	Estimula a neurogênese na SGZ e SVZ	Ativação da ERK5
Neurotransmissores		
Dopamina	Reduz a neurogênese	Receptores de dopamina D2L
Serotonina	Estimula a neurogênese	Receptores de serotonina 1A
Acetilcolina	Reduz a neurogênese	—
Glutamato	Reduz a neurogênese	Receptores metabotrópicos de glutamato e receptores NMDA
Óxido nítrico	Reduz a neurogênese	—
Meio enriquecido	Aumenta a sobrevivência de neurônios recém-formados na SGZ	Fator de crescimento endotelial vascular periférico
Exercício físico	Promove proliferação e sobrevivência celular na SGZ	Fator de crescimento endotelial vascular periférico
Estresse físico e psicossocial	Redução da proliferação celular e número de novos neurônios na SGZ	Ativação do eixo HPA
Antidepressivos	Aumenta a neurogênese na SGZ	Fator neurotrófico derivado do cérebro
Drogas de abuso	Redução da proliferação e sobrevivência celular na SGZ	—

Fonte: Adaptado de FERNANDES, 2015

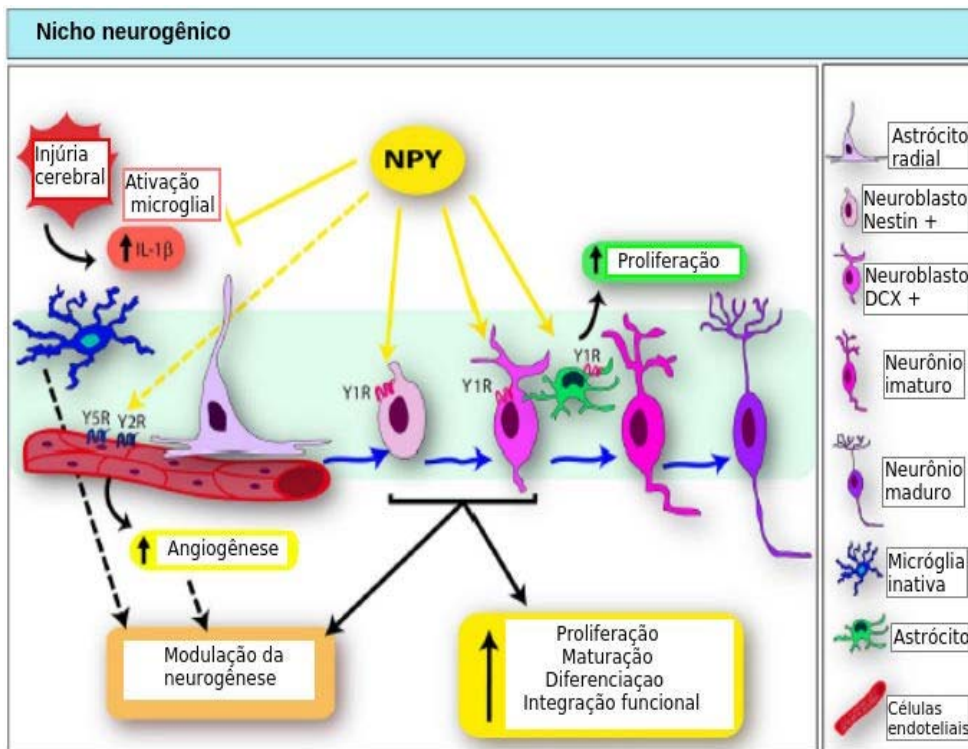


Figura 3: Atuação do neuropeptídeo Y na neurogênese. NPY inibe interleucinas que estimulam a inflamação e que por isso reduzem a neurogênese. Além disso ele estimula a angiogênese local para nutrir as células-tronco neurais e a proliferação de astrócitos, os quais nutrem tais células a partir da vascularização contanto que tais células possuam seu receptor Y1R. Fonte: Adaptado de GELOSO, 2015.

Vale salientar que a manutenção do equilíbrio dos orexígenos e anorexígenos é crucial durante o desenvolvimento e ganho de massa, havendo uma sinalização entre neuropeptídeos e nichos de neurogênese devido à demanda energética (BAKOS, 2015) (ver figura 3). Outra molécula relevante é o gás óxido nítrico (NO) que atua dualmente na neurogênese. Se tiver origem intracelular é pro-neurogênico, se a origem for extracelular, é anti-neurogênico (GELOSO, 2015).

Os estímulos exógenos positivos mais estudados incluem atividade física, enriquecimento ambiental e aprendizagem dependente de olfação ou de atividade hipocampal que estimulam a proliferação de NSCs e/ou a sobrevivência de novos neurônios (BRAUN, 2014). Enquanto que a neurogênese hipocampal adulta humana declina com o envelhecimento, tendo como bases comparativas fundamentadas com camundongos, o nível de neurogênese na SVZ e subsequente migração de novos neurônios gerados da SVZ para o neocórtex e bulbos olfatórios tendem a ser limitados, sendo observados apenas no início da infância.

Além disso, a neurogênese adulta na SVZ parece ser menos prevalente em cérebros maiores. Uma possível explicação é que o crescimento cerebral anatomicamente limita a habilidade de neurônios jovens se moverem de diferentes regiões progenitoras para seu destino final. Ramon y Cajal proclamou em 1928 que, no organismo adulto, “tudo deve morrer, nada deve se regenerar” com a seguinte cautelosa declaração: “é para ser mudado pelos cientistas futuros, se possível, esse severo decreto”. E assim foi feito. Atualmente já se sabe que a neurogênese adulta realmente ocorre em répteis, pássaros e mamíferos, apesar da localização e magnitude variarem entre espécies (PAREDES, 2015).

Estudos indicam que NSCs de cérebros senis têm a habilidade de se diferenciarem em neurônios, mas seus nichos neurogênicos/microambientes não são mais propícios a suportar com a mesma eficiência a neurogênese, o que evidencia o papel crucial de astrócitos, oligodendrócitos, micróglia e células endoteliais na regulação da neurogênese por manter e prover um microambiente permissível.

Com relação à micróglia, se liberar citocinas pró- inflamatórias como TNF/fator de necrose tumoral e IL- 6/interleucina-6, pode induzir a diferenciação de NSCs em astrócitos ou suprimir a neurogênese. Se liberar citocinas anti-inflamatórias, preservará o nicho e dará suporte a diferenciação de NSCs em novos neurônios e conseqüentemente novas sinapses. A densidade de micróglia ativada aumenta com a idade assim como os níveis de citocinas pro-inflamatórias no cérebro (LEPOUSEZ, 2015).

A proliferação de células-tronco neurais (NSC) e conseqüentemente a taxa neurogênica também são dependentes do comprimento do telômero e da atividade da telomerase. A função dessa enzima de prevenir o encurtamento cromossomial durante as repetitivas divisões das NSCs pode ser detectada em áreas de neurogênese e constatou-se ser reduzida durante a diferenciação neuronal.

Caracterizar o padrão temporal neurogênico e o declínio da concentração de telomerase permitiria determinar se a atividade da telomerase é uma consequência da senescência de NSCs ou a causa do decaimento da proliferação em camundongos mais velhos (LEE, 2011).

2.2.1 Ação de algumas drogas

Baixo volume hipocampal tem sido reportado em pacientes que sofrem de depressão e os efeitos anti- depressivos induzidos por inibidores seletivos de recaptção de serotonina (SSRIs) tende a intensificar a neurogênese adulta hipocampal em camundongos o que leva ao aumento imediato na avaliabilidade sináptica de serotonina, facilitando assim a transmissão serotoninérgica (ALENINA, 2014; SONG, 2016) (ver figura 4). Modelos animais de exposição crônica ao álcool têm mostrado consistentemente que o álcool é tóxico para neurônios hipocampais incluindo células granulares do giro denteado, enquanto que um aumento na neurogênese pelos efeitos do álcool é observado em abstinência após dependência alcoólica. Além do mais, receptores GABA estão presentes em novos neurônios formados no SGZ e GABA age como um neurotransmissor excitatório durante as primeiras 2-4 semanas de desenvolvimento do novo neurônio.

Visto que o etanol é um modulador alostérico positivo do receptor GABA-A, tal receptor poderia estar envolvido na ação do etanol em alterar a neurogênese.

No mínimo astrócitos são ativados pelo álcool e, na pior das hipóteses, devem ser lesados por intoxicação por etanol, os quais são importantes no nicho neurogênico (quando não são eles mesmos os precursores dessas células-tronco neurais) (GEIL, 2014).

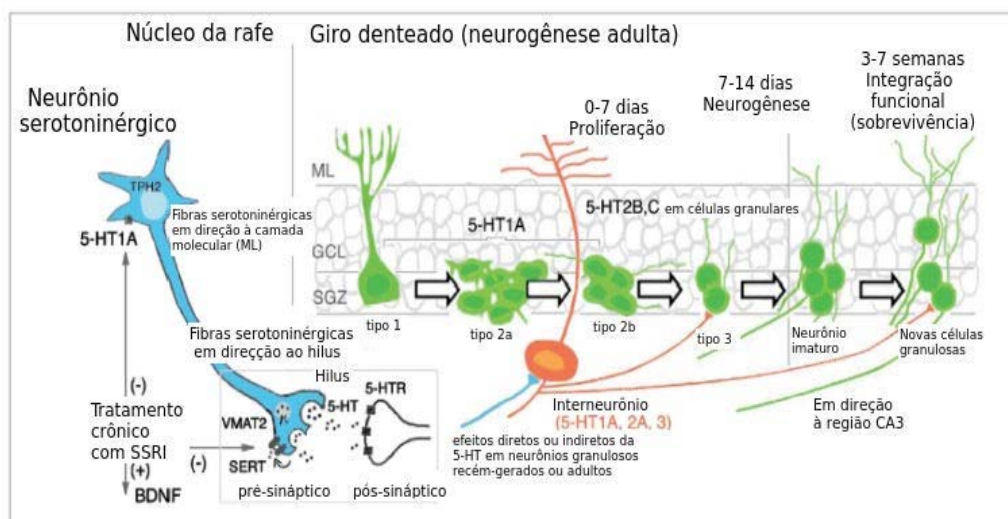


Figura 4: Atuação da serotonina na neurogênese adulta de camundongos. Havendo seu receptor correspondente na célula que está a se diferenciar em neurônio, a 5-HT estimulará esse processo além de viabilizá-lo, quando maduro, em neurônio serotoninérgico, efetivando sua neurotransmissão. Fonte: Adaptado de ALENINA, 2014.

2.2.2 Hipocampal

Estima-se que 700 novos neurônios são gerados no hipocampo de seres humanos todos os dias. No hipocampo, células-tronco multipotentes indiferenciadas neurais (NCCC) geradas no SGZ dão origem a células progenitoras neurais (NPCs) que proliferam e migram para a camada de células granulares (GCL) do DG e, em seguida, diferenciar-se em neurônios, astroglia ou oligodendrócitos (RYAN, 2015) (ver figura 5).

Diversos estudos indicam que a neurogênese hipocampal contribui no aprendizado, formação de memória e regulação do humor, sendo dependente da ação de fatores intrínsecos como fatores de transcrição que são sintetizados por precursores de neurônios, além dos fatores extrínsecos como fatores de crescimento e neurotrofinas secretadas próximas ao nicho neurogênico (MA, 2010). Outro dado relevante sobre essa região é que vários grupos de pesquisa têm defendido a hipótese de um papel crucial da neurogênese hipocampal na separação de padrões (*pattern separation*), que é o processo que torna o animal capaz de diferenciar representações similares ou distinguir uma memória da outra (BRAUN, 2014).

Além disso, *pattern separation* também atua na regulação da ansiedade e do estresse, por exigir a capacidade de distinguir representações por exemplo de um potencial ameaçador de um que não é, permitindo assim o estabelecimento de um nível de comportamento ansioso adequado em determinados contextos comportamentais (OPENDAK, 2015). O hipocampo tem sido por muito tempo associado com desordens psiquiátricas por ser altamente plástico ao longo da vida e particularmente sensível a mudanças do meio. Vale salientar que lesões durante o desenvolvimento da porção ventral do hipocampo produz esquizofrenia em modelos animais. Até mesmo o estresse pré-natal causado por infecção, má nutrição ou estresse psicológico materno podem ser fatores de risco para o desenvolvimento de doenças mentais na fase adulta (SCHOENFELD, 2014).

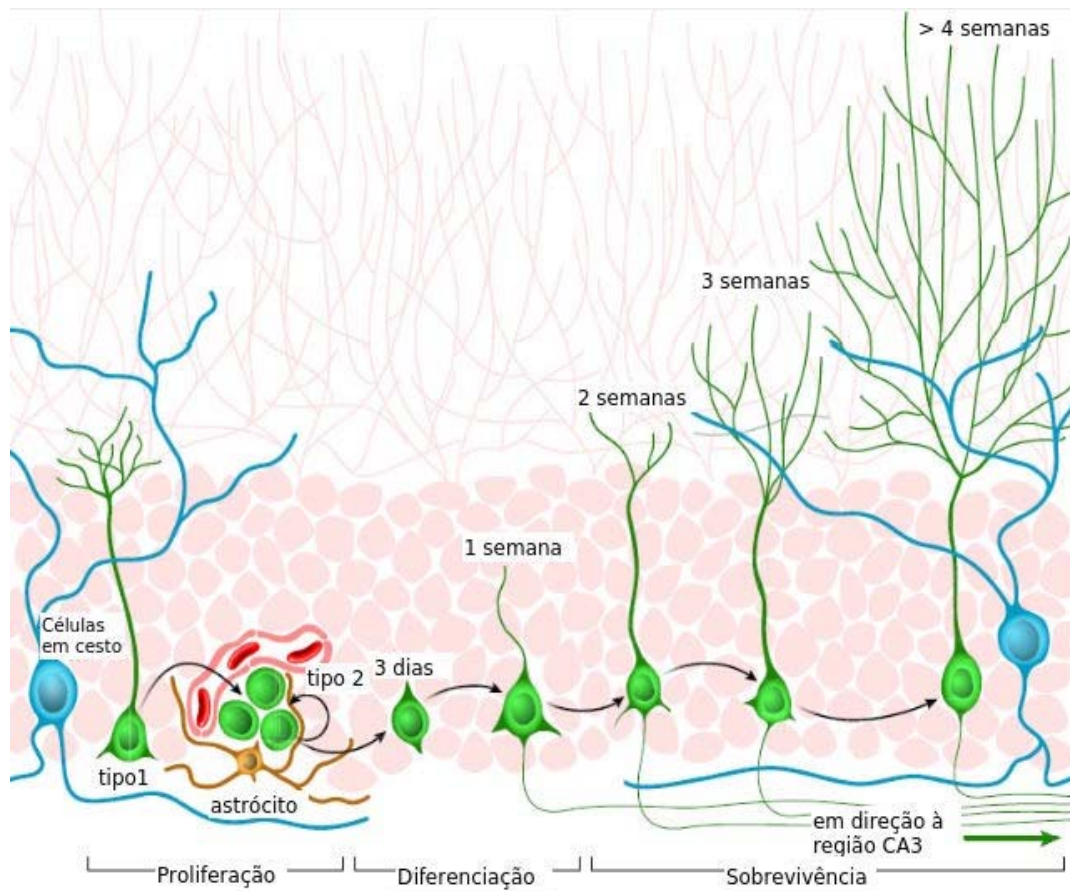


Figura 5: Neurogênese adulta hipocampal evidenciando a contribuição dos astrócitos na nutrição das células jovens e tempo de proliferação, diferenciação e sobrevivência nesse processo desde a célula-tronco neural até o neurônio maduro efetivamente conectada a rede neural pré-estabelecida. Fonte: Adaptado de AIMONE, 2014.

No contexto de epilepsia, neurônios induzidos por convulsão frequentemente migram ectopicamente e mostram integração sináptica aberrante. Uma ideia para um tratamento no futuro seria estimular a proliferação de células-tronco neurais pluricelulares (NSPCs) e/ou induzir a migração de células recém-formadas em direção ao tecido lesionado, seja após uma lesão aguda, como uma convulsão, ou durante uma neurodegeneração crônica, como a doença de Parkinson através de quimiocinas.

Além disso, NSPCs pode ser utilizadas na reparação não apenas de células neuronais como também gliais, como no caso da esclerose múltipla (BRAUN, 2014).

A regulação da neurogênese adulta no giro denteado ocorre de forma distinta entre os sexos. Estudar tais diferenças ajudaria a entender o motivo de mulheres serem mais vulneráveis às doenças psiquiátrica e neurodegenerativa. Fêmeas preferencialmente usam estratégias idiotéticas/ipsativas (baseadas na identificação/afinidade do “eu” pelo objeto) dependente do corpo estriado apesar disso ser influenciado pelo status do hormônio ovariano. Machos preferencialmente usam estratégias espaciais (meramente sua localização no espaço) utilizando o hipocampo para fazer as mesmas tarefas (YAGI, 2015).

Outro estudo, todavia, tem evidenciado que machos adultos mostram sobrevivência celular em nichos neurogênicos do hipocampo diminuída em resposta ao estresse crônico, quando há altos níveis de corticosteroide, enquanto que os mesmos fatores de estresse em fêmeas demonstram aumento de sobrevivência celular (KOTT, 2015).

Novos neurônios formados no giro denteado (DG) do hipocampo participam da codificação de novas memórias em roedores adultos mas o excesso de neurogênese possivelmente prejudica a retenção de memória. Já é estabelecida na literatura a evidência de que neurônios recém-formados se integram em rede neuronais pré-existentes e participam no processamento de informações.

Entretanto a neurogênese hipocampal adulta deve também promover o esquecimento (ver figura 6). Se neurônios recém-gerados incorporassem de um jeito que desestabiliza conexões sinápticas pré-existentes, a neurogênese poderia reduzir memórias previamente codificadas, como foi proposto por modelos teóricos. Assim, codificar novas memórias requer a quantia certa de neurogênese no giro dentado do hipocampo, nem pouco nem muito (MONGIAT, 2014).

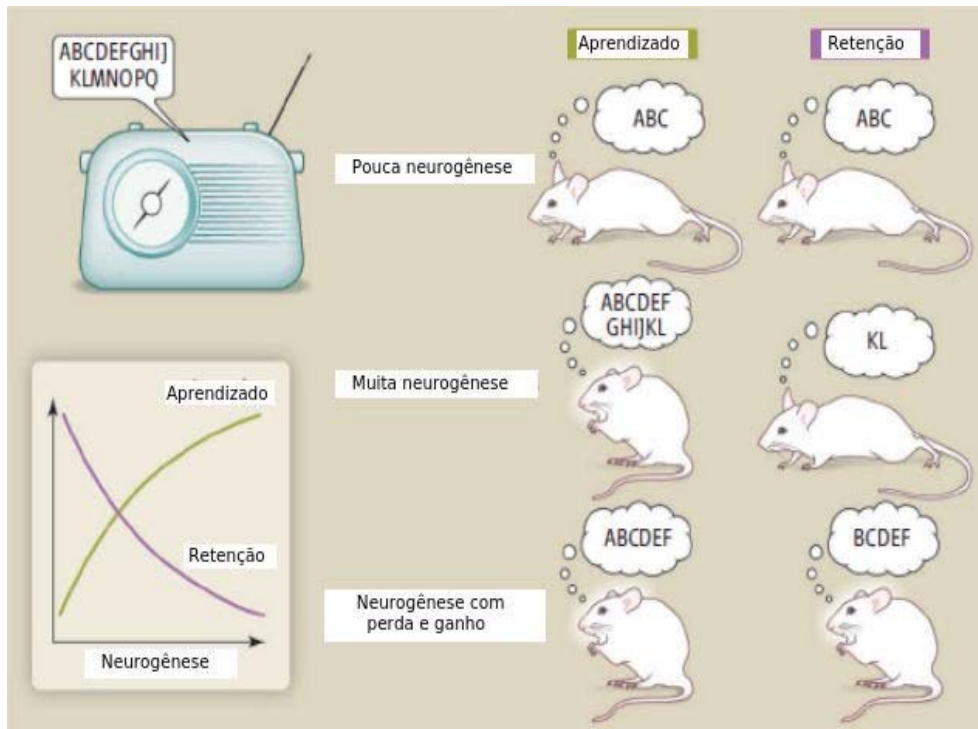


Figura 6: Representação da necessidade de um equilíbrio da taxa neurogênica. Excesso e ausência de neurogênese resultam em uma dificuldade em reter a memória do aprendizado. Existiria então uma faixa considerada ótima em que há ganho e perda de aprendizados mas que é a medida ideal para que haja consolidação da memória correspondente. Fonte: Adaptado de MONGIAT, 2014.

2.2.2.1 Oscilações e o sono

Neurônios imaturos recém-formados têm limiares de ativação diferentes dos neurônios granulares maduros no DG do hipocampo por causa da sua alta excitabilidade em resposta a estímulos fracos, o que os torna mais adequados para recrutamento de novas sinapses durante disparos (*spikes*) recorrentes no sono. A ativação de uma única via de sinalização, a ERK5 MAP kinase, é suficiente para intensificar a neurogênese adulta e aprimorar o aprendizado espacial sob condições desafiadoras e significativamente beneficia a consolidação da memória (WANG, 2015). Adicionalmente, células progenitoras neurais hipocâmpais de camundongos se dividem mais frequentemente à noite.

Durante a diferenciação, tal população minoritária se prolifera, produzindo um ritmo circadiano populacional detectável enquanto que as células não circadianas apresentam sua taxa mitótica reduzida. É provável que as principais proteínas do relógio circadiano sirvam para direcionar temporalmente as etapas da neurogênese em que diferentes genes passam a ser ativados dependendo do relógio biológico (MALIK, 2015a).

A expressão da proteína mPer1 ocorre em oscilações de alta frequência antes dos ritmos circadianos serem detectados, o que representaria um papel desse gene na expressão gênica responsável pela diferenciação celular precoce.

Um ritmo diário no início do ciclo celular de células- tronco tem sido descrito no hipocampo de camundongos adultos, indicando que marcapassos circadianos devem regular a diferenciação de NSPC, possivelmente servindo para otimizar o desencadeamento temporal (*timing*) da neurogênese por promover células mais responsivas quando elas são mais recrutadas para uma discriminação fina da informação sensorial (MALIK, 2015b). Pacientes com doenças degenerativas como Alzheimer, Parkinson e Huntington (CHRISTOPHER, 2011), assim como esquizofrênicos, comumente exibem danos em várias fases do sono (SCHOENFELD, 2014).

Estudos em ratos demonstraram que a privação crônica do sono causa redução na sensibilidade do receptor serotonin-1A, o que não é evidente em privação aguda do sono (FERNANDES, 2015). Adicionalmente, a atividade serotoninérgica durante o sono é relativamente baixa, o que não explicaria um efeito direto desse neurotransmissor na neurogênese durante o sono. Entretanto, é provável que esse estado de repouso seja necessário para manter os níveis de serotonina normais durante o período de vigília (MEERLO, 2008). O fator de crescimento IGF-1 é conhecido por ser um dos promotores da neurogênese. Pesquisas indicam que ratos com privação crônica do sono em testes tiveram baixa capacidade celular de ligação ao IGF-1.

O fator neurotrófico BDNF também facilita a neurogênese hipocampal e possui sua expressão reduzida após privação crônica de sono (o qual está associado com a supressão da fase de sono REM, a qual permite a consolidação da memória). O hormônio do crescimento (GH) por sua vez tem mostrado promover a proliferação de células em cérebro adulto no giro denteado de ratos e proteger os precursores neuronais do hipocampo dos efeitos negativos da privação crônica de sono. Logo seu papel protetor possui relevância clínica visto que a terapia com ele demonstra melhoras do humor e da qualidade de sono de pacientes, efeitos esses associados com a neurogênese no hipocampo.

Vale salientar que os efeitos da privação de sono aparecem com mais intensidade na região ventral do que na dorsal do DG. Lesões seletivas em roedores revelaram que o hipocampo dorsal parece ser responsável por certas formas de aprendizado e memória, chamada aprendizado espacial enquanto que o hipocampo ventral parece se associar com a regulação do comportamento emocional (FERNANDES, 2015).

2.2.2.2 Estresse

Na literatura já foi relatado que recém-nascidos que sofrem privação de oxigênio durante o parto podem ter déficits cognitivos duradouros, tais como perda de memória e de aprendizagem. Foi demonstrado recentemente que a indução de estresse em ratos neonatais promove alterações a longo prazo no repertório comportamental, bem como da taxa de neurogênese no giro denteado.

A separação materna, por exemplo, é um fator estressor capaz de reduzir o volume hipocampal em ratos. A prematuridade e lesões traumáticas também são eventos estressores que levam à alterações de volume em algumas estruturas do cérebro. Em modelos de roedores neonatais com isquemia/hipóxia/acidente vascular cerebral (AVC) também foi evidenciada uma atrofia tanto de substância branca (fibras nervosas/axônios) quanto de substância cinzenta (corpo neuronal propriamente dito), assim como uma atrofia hipocampal, frequentemente acompanhada de efeitos ansiogênicos (TAKADA, 2015). Quanto às micróglia, são os macrófagos do SNC, responsáveis pela manutenção da homeostase do cérebro.

Estudos *in vitro* demonstram que no seu estado de repouso/quiescente a micróglia aumenta e prolonga o potencial neurogênico das células cultivadas. No entanto, se ativada por antígenos ou por alterações na homeostase do cérebro, é predominantemente neurotóxica por promover um ambiente inflamatório e consequentemente reduzir a sobrevivência de neuroblastos (RYAN, 2015). Estudos indicam que astrócitos, micróglia, e oligodendrócitos são influenciados em número, tamanho e função por muitas das experiências que alteram a neurogênese adulta, incluindo estresse e exercício físico.

Estudos evidenciaram que mesmo em estágios avançados de envelhecimento, quando a redução na neurogênese e declínio cognitivo são mais graves, exercícios voluntários mostraram atenuar muitos desses déficits. Interessantemente, o exercício físico também está associado com um aumento de glicocorticóides na corrente sanguínea, no entanto, estas ocorrências aparentemente contraditórias poderiam ser parcialmente explicadas pela regulação positiva maciça de fatores de crescimento circulantes durante o exercício, os quais reduzem os efeitos negativos de glicocorticóides liberados devido ao estresse inerente dessa atividade.

Adicionalmente, roedores em uma dieta que carece de vitaminas ou minerais essenciais apresentaram neurogênese hipocampal reduzida acompanhada de déficit no aprendizado e na memória. Em contraste, os roedores em uma dieta suplementada com antioxidantes como polifenóis e ômega 3 mostraram aumento da neurogênese hipocampal (ver figura 7), bem como melhora no desempenho em testes cognitivos, sugerindo que existe uma sinergia entre a dieta e exercício (AIMONE, 2014).

Neurônios hipocampais expressam altos níveis de receptores glicocorticoides e mineralocorticoides. Além disso, provêm um sistema regulatório de feedback negativo para a resposta ao estresse, inibindo o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) em resposta a um aumento de hormônios do estresse em circulação no organismo (SCHOENFELD, 2014).

Em especial, hormônios como esteróides adrenais, que exercem influência na modulação dos ritmos circadianos, estes últimos envolvidos na proliferação celular hipocampal (FERNANDES, 2015). Visto que altos níveis de corticosteroide suprimem a proliferação celular e baixos níveis promovem a proliferação, (FERNANDES, 2015) supõe-se que essa retroalimentação (*negative feedback*) do hipocampo sobre o eixo HPA venha a prevenir os efeitos de um estresse agudo mas passe a se enfraquecer na fase crônica devido a atrofia dendrítica em várias regiões do hipocampo (MIRESCU, 2006) assim como devido a uma redução global do volume hipocampal (JOCA, 2003).

Todavia, estudos revelam que neurônios recém- formados durante uma corrida são provavelmente menos ativados pelo estresse que os neurônios formados durante uma vida sedentária, (OPENDAK, 2015) o que implica que atividades físicas capacitam neurônios ou, pelo menos, os nichos neurogênicos a se tornarem resistentes aos efeitos negativos de corticosteroides.

Estes por sua vez estimulam a cascata glutamato-cálcio-espécies reativas de oxigênio (ROS) a qual aumenta os níveis de ROS gerando excitotoxicidade (dano neuronal) (YOU, 2009). O estresse oxidativo é controlado pelo equilíbrio de produção e remoção de espécies reativas de oxigênio (ROS) da célula e do microambiente local sendo seu acúmulo associado com uma série de doenças, lesões, desordens psiquiátricas e com o envelhecimento.

Dessa forma, agentes redutores possuem um potencial rejuvenescedor capaz de prevenir a progressão de doenças assim como de preservar nichos neurogênicos. (YUAN, 2015). Sobre o estresse e a ansiedade, estudos indicam que a região dorsal do giro denteado é preferencialmente envolvida com modulação do comportamento exploratório enquanto que a parte ventral é mais envolvida com a regulação do comportamento relacionado com a ansiedade. Adicionalmente, tanto o estresse como a experiência sexual parecem alterar a neurogênese adulta no giro denteado ventral mais profundamente do que na região dorsal.

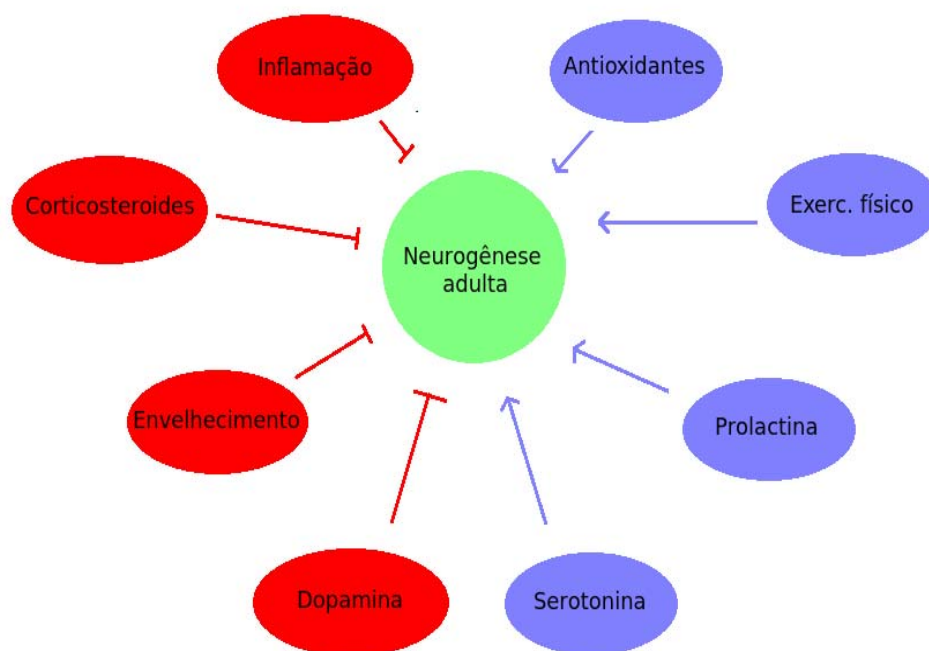


Figura 7: Esquema da relação entre a neurogênese e alguns de seus fatores positivos em azul e negativos em vermelho. Fonte: Adaptado de YUAN, 2015.

Há evidências de que novos neurônios na região ventral não só são menos numerosos, mas também sofrem diferenciação em um ritmo mais lento do que aqueles na região dorsal. Isto sugere que as diferentes janelas de tempo de sensibilidade existem para novos neurônios de uma subdivisão do giro denteado em relação à outra, dependendo da natureza da experiência envolvida (OPENDAK, 2015). A exposição de ratos a estresse agudo aumenta a neurogênese somente na região dorsal e tal aumento também persiste depois de um dano crônico social (LEPOUSEZ, 2015).

Vale lembrar que o excesso de neurogênese poderia indicar um dano na consolidação de novas memórias por prejudicar espacialmente as sinapses pré-existentes. Outro estudo demonstrou que durante o estresse crônico, a diminuição dos níveis de neurogênese pode reduzir a plasticidade do processamento emocional contextual. Na ausência de plasticidade, um aumento da sensibilidade ao perigo, o que poderia ser relacionado com a ansiedade, pode significar que memórias negativas são mais facilmente recordadas durante o processamento emocional contextual e, assim, novos eventos são mais facilmente atribuídos a uma recordação negativa.

Por exemplo, um indivíduo cronicamente estressado, ao receber um e-mail inócuo pode interpretá-lo negativamente, tendo dessa forma uma capacidade reduzida de diferenciação entre os contextos neutros e os carregados emocionalmente por experiências ruins (e-mails com conotações pejorativas) a partir do presente evento, que é percebido de forma aversiva induzindo uma resposta automática ao estresse. Ou seja, o estresse pode causar uma redução da neurogênese adulta que propaga novas reduções na plasticidade no processamento emocional contextual, consolidando assim um ciclo negativo e degenerativo (EGELAND, 2015).

2.2.3 Subventricular

As células B1 localizadas no SVZ são capazes de gerar diferentes classes de interneurônios que migram para o bulbo olfatório (OB) onde podem exercer sua função (KHEIRBEK, 2015), de natureza inibitória (WANG, 2015). Efeitos sobre a aprendizagem olfativa, reconhecimento social, medo condicionado, limiar de detecção de odor, comportamentos específicos de sexo e memória olfativa de curto prazo foram todos relatados em função da neurogênese adulta no bulbo olfativo em que alterações neste circuito podem vir a afetar o ajuste fino da temporização entre o estímulo sensorial e a detecção do mesmo (CUMMINGS, D., 2014). Estudos indicam que a supressão de ERK5 leva a vários déficits de comportamento olfativo, incluindo redução da sensibilidade de detecção de odor e de memória de curto prazo em roedores (WANG, 2015).

Complementarmente, neurônios imaturos apresentam perfis melhores de resposta fisiológica quando comparados com interneurônios pré-existentes. Este aumento da excitabilidade pode permitir aos novos neurônios que compitam transitoriamente pelo espaço sináptico limitado, resultando em uma otimização contínua dos circuitos do bulbo olfatório (CUMMINGS, D., 2014), até porque neurônios recém-formados recebem menos inibição e exibem consideravelmente maior plasticidade sináptica (AIMONE, 2014).

2.3 Esquizofrenia

2.3.1 Descrição

A esquizofrenia (SZ) é um distúrbio psiquiátrico crônico que apresenta diversos sintomas, incluindo alucinações, em sua maioria auditiva, delírios, perda de memória, apatia, isolamento social e deficiência na percepção coerente, podendo ser desencadeada durante uma percepção dupla (fenômeno em que um padrão visual dá origem a pelo menos duas representações perceptuais distintas e simultâneas) (BASAR, 2015), além de afetar cerca de 1% da população mundial. Indivíduos que têm um parente de primeiro grau com SZ possuem risco de adquirir os sintomas da doença aumentado dez vezes. Vale ressaltar que se um dos gêmeos monozigóticos desenvolver a doença, o outro possui ~ 50% de chances de desenvolver também, o que indica um forte caráter genético de transmissão (HAN, J., 2015).

Entretanto, gêmeos monozigóticos diferem no padrão de metilação de seus genes, o que evidencia a participação de mecanismos epigenéticos em vias envolvidas com transtornos psiquiátricos, podendo levar a perturbações da atividade inibitória e das funções corticais associativas. A hipermetilação de genes que afetam a biossíntese do triacilglicerol, assim como a hipometilação de genes que afetam o glutamato e vias de sinalização de CREB, provavelmente estão associadas às psicoses (MELKA, 2015).

A esquizofrenia tem sido rotulada como " uma doença de sinapse ", causada por um mau funcionamento sináptico que afeta a conectividade do cérebro (SIEGERT, 2010) acompanhado por um desbalanço de neurotransmissores. Existem três hipóteses atualmente que servem de alicerce para explicar essa doença: dopaminérgica, glutamaérgica e serotoninérgica. A primeira afirma que uma hipofunção dopaminérgica no córtex pré-frontal está relacionada com a via mesocortical e com os sintomas negativos como anedonia (perda da capacidade de sentir prazer) ao mesmo tempo que haveria uma hiperfunção dopaminérgica no núcleo estriado, relacionada com a via mesolímbica e responsável pelos sintomas positivos como as alucinações sensoriais, principalmente auditivas (BRACHT, 2014; OLIJSLAGERS, 2005).

Vale salientar que a via mesolímbica inicia-se na área tegmental ventral do mesencéfalo e forma conexão com o sistema límbico através do núcleo accumbens que por sua vez se integra através de conexões por exemplo glutamérgicas com o córtex orbitofrontal (OFC), amígdala, cíngulo anterior, córtex insular e hipocampo, sendo este último justamente a região em que ocorre com maior incidência a neurogênese adulta, a qual aparenta estar anormalmente reduzida em esquizofrênicos (ADINOFF, 2004; HECKERS, 2001).

Nesse contexto é válida a seguinte citação traduzida de Donald R. Roberts, 1963: “Há uma razão para acreditar que o hipocampo pode ser uma estrutura-chave em que uma grave perturbação de sua atividade é essencial para a produção de psicoses”. A desregulação do sistema da dopamina desempenha um papel crítico na psicose, no déficit cognitivo, na anormalidade da via de recompensa e em distúrbios de movimento, todos os quais não só se manifestam na esquizofrenia como também se associam à depressão maior, transtorno bipolar e vícios (PEREZ-COSTAS, 2010). Cérebros esquizofrênicos possuem um número exacerbado de receptores D2 e é por isso que antipsicóticos em geral tratam bloqueando receptores D2, mas com diferentes graus de afinidade (ARARIPE, 2007).

Vale salientar que os efeitos colaterais do uso de antipsicóticos aparentam estar mais envolvidos com as vias nigroestriatal (efeito colateral extrapiramidal) e tubero-infundibular (ocorrência de hiperprolactinemia) em que neurônios dopaminérgicos disparam de forma anormal (OLIJSLAGERS, 2005). Acredita-se que a segunda hipótese seja complementar a primeira. Uma evidência dessa associação é o uso crônico de fenciclidina, pois, além desse fármaco ser antagonista não-competitivo do receptor glutamatergico, NMDA, reduz o *turnover* de dopamina no córtex frontal e aumenta a liberação de dopamina em regiões subcorticais, como o núcleo *accumbens* (ARARIPE, 2007), ou seja, o glutamato indiretamente demonstra alterar o padrão de liberação do neurotransmissor dopamina em determinadas regiões do cérebro.

A terceira hipótese segue o mesmo raciocínio da segunda e afirma haver uma relação entre a via serotoninérgica com a dopaminérgica. Uma prova seria o uso de neurolépticos atípicos no bloqueio de receptores 5-HT_{2A} para atenuar os sintomas (EGGERS, 2013). Outros neurotransmissores como a adenosina também parecem estar envolvidos na sintomatologia da SZ (ARARIPE, 2007). Como se trata de um complexo distúrbio multifatorial, considerar a integração de todos neurotransmissores envolvidos em uma teoria sólida se faz uma etapa fundamental.

2.3.2 Tratamento

Com relação ao tratamento, o uso de medicamentos anti-psicóticos de primeira geração em monoterapia se revela insuficiente em mais de 70% dos casos sendo a clozapina atualmente o antipsicótico mais eficaz para pacientes refratários. Os anti-psicóticos de segunda geração orais e benzodiazepínicos são os mais indicados em casos de tranquilização imediata, evitando assim medidas mais extremas como injeções ou restrições mecânicas, usadas em último caso. No que diz respeito ao tratamento com polifármacos, é sabido que os efeitos colaterais são mais acentuados e que a qualidade do sono é prejudicada, sendo assim um fator de risco para desencadear padrões sintomáticos.

Outro aspecto da doença é o déficit cognitivo, o qual não parece ser alterado ou influenciado por nenhum tipo de antipsicótico, mas notoriamente remediado com o uso da Terapia de Reabilitação Cognitiva (*Cognitive Rehabilitation Therapy*) (KRISTENSEN, 2011). Uma alternativa que se mostra promissora no auxílio do tratamento de psicoses mas que requer estudos mais apurados é a meditação *Mindfulness* (mente plena). Por definição é entendida como: "A consciência que emerge através da atenção intencional no momento presente sem julgamento ao desdobramento de experiências [sensações, emoções e pensamentos] no decorrer do momento presente".

A ideia principal seria induzir em pacientes psicóticos, que reagem resistindo a delírios paranoicos com ruminação, não um confronto, mas a aceitação/acolhimento compassivo do que na realidade não passa de um pensamento e que ele não faz parte do seu “Eu”/“*Self*”, através de uma progressão contínua de conscientização. Entretanto, existem evidências de que a ativação considerável do sistema de dopamina em estados meditativos de êxtase é similar a que ocorre nas psicoses e que por isso nem todo tipo de prática meditativa seria indicada para pacientes esquizofrênicos, como por exemplo participar de retiros de meditação de longo prazo. Vale salientar que submeter tais pacientes às meditações concentradas (*focused attention*) pode vir a aumentar a probabilidade do surgimento de psicoses enquanto que a probabilidade é invertida no caso de meditações abertas (*open monitoring*).

Um estudo piloto evidenciou que, submetendo um grupo de 10 pacientes com psicose às 6 sessões semanais de 90 minutos com intervalo de 15 minutos de prática meditativa guiada a cada 2 minutos, dentro de suas limitações como um N baixo, houve uma redução dos sintomas positivos e modesta redução dos sintomas negativos, havendo melhora de nove dos dez pacientes na Escala de Resultados Clínicos em Avaliação de Rotina (CORE) e nenhum efeito adverso (DYGA, 2015).

No que pauta as pesquisas voltadas para um melhor entendimento da doença, sintomas associados a esquizofrenia podem ser uns dos mais difíceis de modelar em testes de comportamento de roedores.

A inibição de pré-pulso (*prepulse inhibition*) reflete déficits de propagação sensorial, frequentemente descritos como um marcador biológico da esquizofrenia, embora ele não seja específico para esta condição. Poderia se pensar então em um estudo de tecido humano *post-mortem*, porém esse também possui limitações: a imunocoloração em um tecido post-mortem humano é difícil, e a coloração resultante é geralmente de qualidade muito inferior do que a imunocoloração de cérebros de roedores perfundidos.

Sem injetar BrdU (Bromodesoxiuridina, um nucleosídeo sintético que marca células em proliferação) antes da morte, o que raramente é feito em estudos humanos, não há nenhuma maneira de seguir novas células e comparar com maior precisão as taxas de proliferação neuronal (SCHOENFELD, 2014). Isso reflete a necessidade de novas ferramentas tecnológicas com maior poder de resolução, sensibilidade e especificidade capaz de analisar, se possível, cérebros humanos vivos, destacando assim ferramentas de neuroimagem.

2.3.3 Epidemiologia

Dados epidemiológicos têm revelado que genes contribuem com mais de 80% da variação populacional em risco de desenvolver esquizofrenia (WILLIAMS, 2010).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), o Estudo Piloto Internacional de Esquizofrenia (IPSS) e o Estudo Internacional de Esquizofrenia (ISOs) evidenciaram que estudos de diversos países asiáticos têm documentado muitos resultados em contraste com o resto do mundo. No Brasil, estudos epidemiológicos de 2013 indicam que a cada 100.000 pessoas, cerca de 31 possuem esquizofrenia (ver tabela 2).

Tabela 2: Epidemiologia da Esquizofrenia em diferentes países

País	Nº de pesquisas epidemiológicas	Incidência em cada 100.000 pessoas
Austrália	1	22.0
Brasil	2	31.5
Canadá	7	23.9
China	3	10.7
Dinamarca	10	10.8
Estados Unidos	4	23.1
França	2	11.9
Irlanda	4	14.3
Itália	5	16.9
Holanda	8	13.2
Japão	3	20.0
Suécia	4	20.7
Reino Unido	32	15.9

Fonte: Adaptado de BURNS et al, 2013.

Por exemplo, a prevalência da esquizofrenia tem sido relatada mais em mulheres do que em homens em estudos chineses (HOLLA, 2015).

Na Europa e na América do Norte, pacientes esquizofrênicos tratados com medicamentos antipsicóticos têm uma maior prevalência de obesidade e síndrome metabólica em comparação com indivíduos saudáveis. Enquanto isso, no Japão, a prevalência de sobrepesos/obesos na população em geral é consideravelmente menor e esquizofrênicos morrem abaixo do peso considerado normal. Isso possivelmente se deve aos seguintes fatores de risco: à alta incidência de hipocolesterolemia na população japonesa em geral (a qual se associa com a hemorragia cerebral), à densidade óssea normalmente reduzida em pacientes com esquizofrenia em tratamento antipsicótico quando comparada com o público em geral, à falta de exercício, tabagismo e dieta hipocalórica (SUZUKI, 2013).

Apesar de existir uma associação entre desigualdade de renda e incidência de esquizofrenia (BURNS, 2013) o número de relatos registrados é consideravelmente maior em países desenvolvidos quando comparado com países em desenvolvimento. Isso provavelmente se deve a uma hipovitaminose de vitamina D, seja por falta de acesso à vitamina D em suplementos vitamínicos e alimentos fortificados ou pela cor da pele, que afeta a absorção de radiação UV da luz solar e a capacidade de sintetizar a vitamina (quanto mais escura for a pele, menos vitamina D é sintetizada em regiões de altas latitudes).

Tal deficiência pode aumentar a cronicidade, bem como a incidência da esquizofrenia, por enfraquecer o sistema imune e a sua capacidade para combater qualquer infecção pós-natal ou doenças imunológicas que podem contribuir para o desencadeamento dos sintomas da esquizofrenia (KINNEY, 2009). Vale ressaltar que a massa óssea reduzida afeta mais de metade dos pacientes com esquizofrenia e é cerca de duas vezes mais comum em comparação com controles da mesma idade e sexo. Vários estudos têm investigado a influência dos antipsicóticos sobre a osteoporose, enquanto outras narrativas consideram a osteoporose como sendo inerente da esquizofrenia (STUBBS 2014).

Indivíduos com predisposição genética para desenvolver SZ possuem chances aumentadas se forem fumantes e, se o uso for intenso, as chances são ainda maiores. O abuso de drogas também está associado com altas taxas de tabagismo e com risco de esquizofrenia (KENDLER, 2015). A assimetria hemisférica é um outro fator a ser considerado por estar presente em inúmeras doenças neurológicas, incluindo a SZ. Isso ressalta a importância da compreensão da neurogênese lateralizada não só para o avanço do conhecimento sobre o funcionamento do cérebro saudável, mas também para proporcionar novas ideias de como a neurogênese controlada pode ser usada na reparação do tecido cerebral em terapias futuras (TSOI, 2014).

Apesar do bulbo olfatório não vir em mente como uma região-chave para doenças mentais, o estado depressivo produzido em roedores por remover os bulbos olfatórios e mudanças olfatórias em pacientes humanos depressivos sugerem uma associação potencial entre olfação e depressão. Além do mais, há evidências de que esquizofrênicos possuem déficits olfatórios (SCHOENFELD, 2014).

2.4 miR-137

Microdeleções de regiões cromossômicas em 1p21.3, onde o miR-137 está localizado, têm sido associadas com deficiências mentais. Além disso, o polimorfismo de seu gene, em especial quando os alelos se apresentam em homozigose T/T, tem sido detectado em pacientes esquizofrênicos com comprometimento cognitivo grave (GREEN, 2012; HOMMERS, 2014; YIN, 2014). Recentemente foi identificado um novo miRNA inserido no gene precursor do miR-137 (MIR137HG) chamado mir-2682. Apesar de atualmente existirem poucos estudos sobre ele, já se tem evidências a partir de simulações computacionais que o gene anquirina 3 (ANK3), previamente associado à doença de Parkinson, venha a ser seu possível alvo (DUAN, 2014).

Os níveis de miR-137 são aproximadamente 100 vezes mais elevados no adulto em comparação com o cérebro embrionário, sugerindo que a expressão de miR-137 aumenta durante o desenvolvimento do cérebro e da diferenciação neuronal (KUSWANTO, 2015).

Adicionalmente, alguns estudos têm mostrado que a deleção da região cromossômica em que o gene miR-137 se localiza (1p21.3) deve contribuir no desenvolvimento da obesidade (D'ANGELO, 2015).

2.4.1 miR-137 e cânceres

O miR-137 humano é incorporado em uma ilha CpG, sendo silenciado por metilação na maioria dos cânceres por atuar majoritariamente como supressor tumoral (HAN, Y, 2015) entretanto há exceções (ver tabela 3).

Considerado um dos miRNAs mais presentes em sinaptossomos de neurônios maduros adultos, o miR-137 é também expresso comumente no giro denteado hipocampal e estudos revelam que pode atuar no compartimento pré-sináptico, assim como no compartimento dendrítico e pós-sináptico. É sabido que a síntese de proteína local é importante para a transmissão sináptica e plasticidade neural. Nos neurônios maduros, o miR-137 pode regular a tradução de um subconjunto de proteínas que são importantes nesses dois eventos (SMRT, 2010). Logo sua expressão anormal afeta a liberação de vesículas nos terminais pré-sinápticos que por sua vez alteram o funcionamento do hipocampo (HAN, J., 2015).

Tabela 3: Perfil de expressão do miR-137 em cânceres

Câncer	Expressão do mir-137	Mecanismo de ação do mir-137	Fonte
Melanoma Uveal	Reprimida	Inibe MITF e CDK6	CHEN, 2010
De bexiga	Estimulada	Inibe PAQR3	XIU, 2014
Gástrico	Reprimida	Inibe CDC42	GU, 2015
Glioblastoma	Reprimida	Inibe RTVP-1	BIER, 2013
Astrocitoma	Reprimida	Inibe RASGRF1	DENG, 2016
Glioma	Reprimida	Inibe RAC1	SUN, 2013
Carcinoma hepatocelular	Reprimida	Inibe AKT2	LIU, L., 2014
Carcinoma papilar da tireoide	Reprimida	Inibe CXCL12	DONG, 2016
Ovariano	Reprimida	Inibe AEG-1	GUO, 2013
Osteossarcoma	Reprimida	Inibe FXD6	LI, 2014
Pulmonar	Reprimida	Inibe BMP7	YANG, 2015

2.4.2 miR-137 e a neurogênese

O miR-137 possui papel fundamental nas primeiras etapas da neurogênese (MEZA-SOSA, 2014) além de ser crucial no desenvolvimento neural e estar envolvido em diversas doenças como esquizofrenia, autismo, síndrome de Rett, Alzheimer e doença de Huntington (COLLINS, 2014). Uma expressão acentuada de miR-137 em linhagens de células de neuroblastoma e células estaminais do cancro derivadas de glioblastoma (GSCS) mostrou reduzir a viabilidade das células e sua proliferação por promover a diferenciação neuronal, sendo esta sua principal função na neurogênese adulta (MEZA-SOSA, 2013) (ver figura 8).

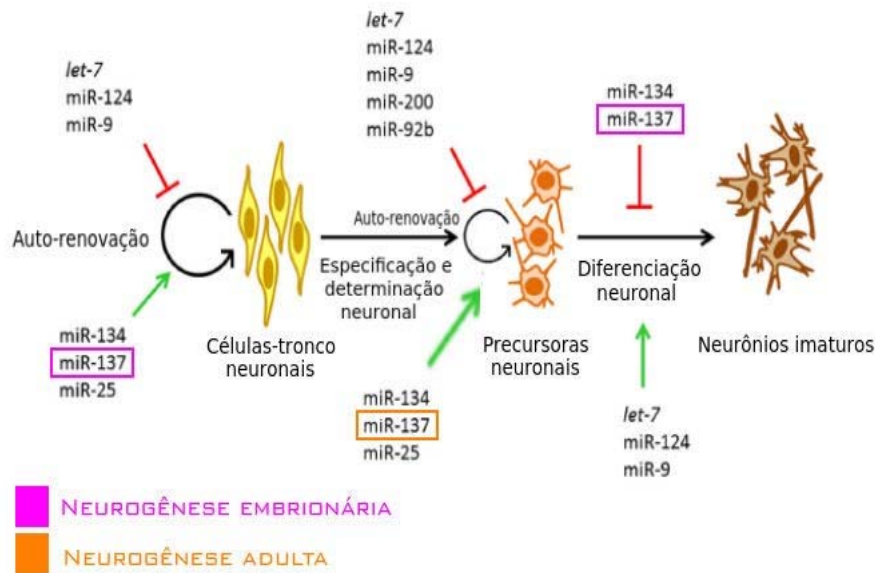


Figura 8: Esquema que evidencia a diferença da atuação do miR-137 na neurogênese embrionária (estimula a proliferação de células-tronco neurais) e adulta (estimula a diferenciação).
 Fonte: Adaptado de MEZA-SOSA, 2014.

2.4.3 miR-137 e a SZ

Observações em tecido *post-mortem* humano evidenciaram que miR-137 é altamente expresso no hipocampo, córtex occipital e córtex frontal. Quanto aos seus alvos mais conhecidos, temos: FXYD6, BRD1, GSK3B, CDK6, CDC42, CACNA1C, BDNF, ZNF804A, TCF4, CSMD, C10orf26, ErbB4, GABRA1, GRIN2A, GRM5, NRG2 e HTR2C os quais têm maiores níveis de expressão em períodos de risco de aparecimento de SZ (WRIGHT, 2013; KUSWANTO, 2015; AM, 2013). Diversos estudos têm evidenciado que o polimorfismo do miR-137 está diretamente relacionado com os sintomas mentais e disfunção cognitiva relacionados com a SZ.

Porém é importante ressaltar que tais associações não foram encontradas em pacientes esquizofrênicos chineses do grupo étnico Han. Isso pode sugerir uma heterogeneidade genética distinta nas populações chinesas (YUAN, 2014). Outras pesquisas mostraram que indivíduos portadores de miR-137 com genótipo de risco de SZ (T/T) mostraram hiperativação cerebral, um fenótipo de esquizofrenia já bem estabelecido na literatura como uma medida de ineficiência funcional, quando comparados com os portadores do genótipo GG / GT menos frequentes.

Mais recentemente, um outro estudo, *post mortem*, demonstrou que uma diminuição da expressão de miR-137 causada pelo genótipo T/T (polimorfismo do miR-137) se associa com a expressão aumentada de TCF4, o qual poderia também servir no desenvolvimento do prognóstico de SZ. O miR-137 é indiretamente regulado pelo miR-132, cuja expressão foi encontrada para diferir entre pacientes e controles em diversos estudos e também pode ser influenciada por perturbações mais gerais na via biogênese dos microRNAs. O córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC) têm mostrado ser uma das regiões mais importantes envolvidas na patogênese da esquizofrenia e há diversas evidências de que o miR-137 afeta as sinapses entre DLPFC e o hipocampo.

Adicionalmente, as implicações funcionais da regulação gênica do miR-137 têm sido mensuradas com ressonância magnética funcional (QUEDNOW, 2014; VAN ERP, 2013; LIU, B., 2014; CUMMINGS, E., 2012; WHALLEY, 2012; KUSWANTO, 2015).

Estudos de MRI estruturais mostram que a esquizofrenia está associada com uma redução do volume cerebral total de cerca de 2,6% , com efeitos maiores de matéria cinzenta do que a matéria branca e com as reduções proeminentes em córtices frontais e temporais e o hipocampo. Entretanto os mecanismos pelos quais miR-137 está envolvido na SZ não são aqueles que geram as reduções do volume do corpo caloso comumente encontrados nessa desordem. Aparentemente as correlações fisiopatológicas com a variação alélica do miR-137 ocorrem através da desregulação na sinaptogênese e alteração da integridade das fibras nervosas, não havendo evidências de que esteja envolvido na alteração do volume cerebral por redução de número de células (COUSIJIN, 2014; PATEL, 2015).

Além disso, miR-137 também está envolvido na regulação da plasticidade neuronal, através da modulação de sinalização dependente de receptores de glicocorticóides, o que diretamente se relaciona com a neurogênese adulta (KUSWANTO, 2015).

2.5 Bioinformática

2.5.1 Definição e evolução

A Bioinformática é uma área da ciência bastante abrangente que lida com dados virtuais de Genômica, Epigenômica, Transcriptoma, Proteômica, predições de similaridade entre sequências, predições da estrutura secundária e até 3D de biomoléculas, análises de regiões de ligação de uma sequência de interesse, filogenia de genes e/ou proteínas e com o aprimoramento de bancos de dados que contenham esses dados. O estudo dos mecanismos de codificação, de controle transcricional/traducional, função proteica, dinâmica molecular e de interação entre espécies pertencem mais à área de Biologia Sistêmica enquanto que a criação de simulações baseadas em cálculos estatísticos de interação e cinética molecular pertencem à área de Biologia Computacional, ambas intrinsecamente associadas à Bioinformática (PEREZ-IRATXETA, 2007).

2.5.2 Ferramentas

O uso de ferramentas bioinformáticas em pesquisas biomédicas tem crescido durante as três últimas décadas devido à necessidade de não só produzir dados genômicos como também organizá-los, atualizá-los e interligá-los. Isso levou a um aprimoramento constante e criação de tais ferramentas/programas, hoje disponíveis online ou para baixar gratuitamente (PEREZ-IRATXETA, 2007).

Algumas das centenas de análises possíveis, em especial para sequências de DNA, são pautadas em predições de regiões promotoras, estabilidade energética, regiões de ligação aos fatores de transcrição, ilhas CpG, grau de torção da dupla hélice, largura do sulco menor, enovelamento e posicionamento nucleossômico. Sendo assim, certos bancos de dados como NCBI e o OMICtools são ferramentas iniciais para a maioria das análises bioinformáticas.

No NCBI por exemplo é possível obter as informações detalhadas de um gene e seu transcrito enquanto que o OMICtools oferece, a partir da opção de 'Busca', um leque de programas gratuitos normalmente associados à universidades ou laboratórios de seus criadores, reconhecidos em suas respectivas áreas. Ao buscar ferramentas específicas no OMICtools para as análises citadas é possível eleger um programa a partir de parâmetros como: Interface intuitiva; Uso online (não necessitando fazer o download); Processamento rápido; Resultado claro e simplificado. Segue uma breve explicação sobre cada predição e softwares que seguem tais parâmetros:

As regiões promotoras, como o próprio diz, promovem, no caso, a iniciação da transcrição, antecedendo dessa forma o gene a ser transcrito. Logo, uma mutação nessa região pode comprometer seriamente a expressão do gene de interesse (NEWBURGER, 1994).

O programa [Promoter 2.0 Prediction Server](#) permite a predição de promotores eucariotos de sequências de até 1.500.000 bp em formato FASTA (“>” + Enter + sequência em texto sem espaços) de forma bastante eficiente.

A estabilidade energética de uma macromolécula como o DNA pode ser alterada quando submetida a uma mutação. Uma molécula instável tende a ter sua conformação modificada e conseqüentemente expor ou deixar de expor determinados genes para agentes regulatórios. Quanto mais negativo for o valor energético das ligações que constituem uma molécula, mais estável ela é. A instabilidade pode inclusive alterar os sítios de ligação de fatores de transcrição do DNA, os quais podem estimular ou reprimir a transcrição gênica (MEYSMAN, 2011).

Além desses parâmetros, a distribuição de ilhas CpG (dinucleotídeo 5'-CG-3') é consideravelmente relevante quando se visa analisar regiões que podem vir a sofrer interferência epigenética já que metilações ocorrem justamente nessas ilhas (BELL et al, 2011). Com o programa [GPminer](#) é possível obter tais informações graficamente de forma bem intuitiva. Quanto aos parâmetros de grau de torção da dupla hélice, largura do sulco menor e enovelamento, um dos programas gratuitos mais completos online na atualidade é o [DNAshape](#) (ver figura 9).



Figura 9: Predições da região em que a mutação ocorre. Fonte: Adaptado de Rohs Lab

A torção helical é caracterizada pela quantidade de torções que as duas fitas de DNA fazem uma na outra. O DNA de estrutura do tipo B, mais comum em sistema biológicos, possui um giro de 360° a cada 10.4 bp, podendo apresentar torções mais extremas (para mais e para menos) que alteram sua estrutura secundária e conseqüentemente sua função e acessibilidade. Regiões superenroladas (*supercoiled*) possuem maior torção helical e o contrário também se aplica (STRICK, 1998).

A largura do sulco menor depende das pontes de hidrogênio existentes na molécula de DNA e se relaciona com o potencial eletrostático do sulco menor. Quanto maior a largura, mais positivo é o potencial eletrostático, mais expostos ficam os hidrogênios da desoxirribose da espinha dorsal do DNA e o índice de clivagem é alto.

Quanto menor, mais negativo é o potencial e menor o ângulo de acesso para uma possível clivagem ocorrer (BISHOP, 2011).

Vale salientar que essa modificação no potencial eletrostático gera uma alteração na preferência dos ligantes por essas regiões, o que pode incluir agentes epigenéticos. O parâmetro “roll” ou enovelamento (ver figura 10) do DNA se baseia na distância em graus entre os pares de bases o que pode tornar um sulco menos ou mais acessível à atuação, por exemplo, de fármacos. Quanto maior a distância, mais negativo é o enovelamento e quanto menor a distância, mais positivo (GRASEL, 2015).

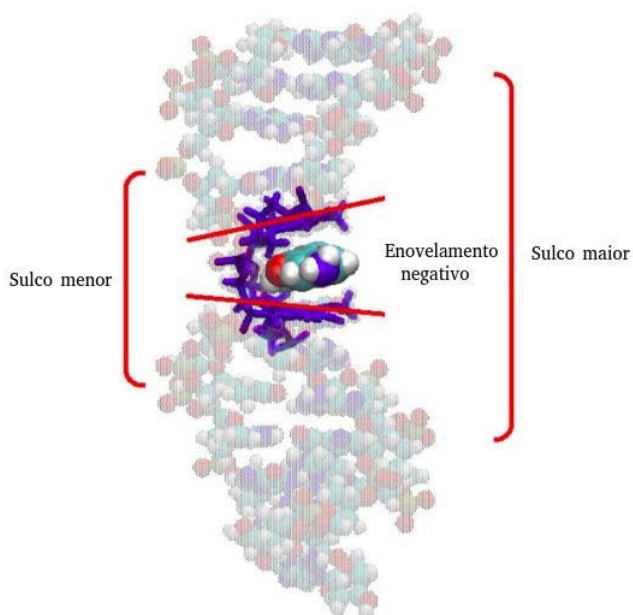


Figura 10: Representação do que seria o enovelamento negativo. Quanto menor for o enovelamento, mais acessível é a região a diversos interferentes como fármacos, por exemplo. Fonte: Adaptado de GRASEL, 2015.

Com base nos cálculos do software do Rohs Lab, deformações extremas podem ser previstas a partir desses critérios: (i) Torção helical $>45^\circ$ ($\sim 35^\circ$ in B-DNA);

(ii) Largura do sulco menor $>8.5^\circ$ ou $<1.5^\circ$ ($\sim 5.8^\circ$ in B-DNA);

(iii) enovelamento $>20^\circ$ ($\sim 0^\circ$ in B-DNA) (ZHOU, 2013).

O posicionamento nucleossômico pode ser predito com a interface do programa [RECON](#), que calcula a distribuição nucleossômica mais provável ao longo da sequência de interesse em que valores maiores que zero correspondem a predições confiáveis sendo o valor +1 a melhor predição possível, 100% (LEVITSKY, 2004). Nucleossomos são constituídos por 147 bps de DNA enrolados em um octâmero de histonas (pares das histonas H2A, H2B, H3 e H4). Entre eles existem os ligantes de DNA (DNA linkers) que variam entre 0 à 80 em comprimento dependendo do tecido e da espécie em questão (ROUTH, 2008) sendo regiões mais acessíveis ao maquinário de transcrição. Vale ressaltar que nucleossomos idênticos (compostos pela mesma sequência de DNA e mesmas proteínas) podem se diferir quanto à dinâmica conformacional (NGO, 2015).

No que pauta a atualização/*upgrade* de bancos de dados de RNAs não codantes, em especial de microRNAs, alguns comentários construtivos devem ser considerados. Por exemplo, microRNAs tipicamente possuem mais de um laço em sua estrutura, precisam obrigatoriamente serem processados pela enzima Dicer, valendo salientar que sua forma em grampo não é exclusiva, sendo encontrada em diversos outros RNAs não-codantes.

Logo, diferenciar os milhões de grampos a partir dos poucos verdadeiros miRNAs é um desafio fundamental para a criação de controles negativos e consequente identificação mais específica de sequências *in silico*. Falhas em coletar dados que sirvam como controles positivos e negativos podem reduzir significativamente o desempenho estatístico de softwares de bioinformática, problemática esta consideravelmente promissora para biólogos computacionais.

Dois pontos a serem considerados na construção de softwares mais eficientes que abranjam um panorama maior são: Ainda que se saiba que muitos ncRNAs são conservados durante a evolução, a ausência de conservação não significa necessariamente em perda de função (SAÇAR, 2014) e lembrar que alterações funcionais de miRNAs muitas vezes são devido à expressão aberrante de fatores de transcrição e lncRNAs, uns de seus reguladores, e não necessariamente devido a uma alteração neles próprios (YE, 2014).

A Bioinformática é considerada atualmente complementar às análises *in situ*, *in vitro* e/ou *in vivo*, como se evidencia na maioria dos artigos científicos que pautam a Biologia Molecular. Entretanto, não se pode desprezar o potencial futurístico dessa área quando o genoma humano individualizado já estiver no mercado, os programas de predições *in silico* mais apurados e os processadores mais potentes.

2.5.3 Bioética

A Bioinformática possui uma indiscutível importância eminente em grandes decisões não só científicas como também político-econômicas e tem ganhado um maior destaque nos últimos anos. Aconselhamentos genéticos baseados no Genoma Humano têm se mostrado úteis para pacientes descobrirem se são portadores de alelos que indicam pré-disposição a alguma doença de cunho fortemente genético, principalmente quando o tema é a reprodução humana assistida, quando casais optam escolher por um embrião saudável entre os não-saudáveis, que seriam descartados. Porém vale salientar que o genoma da espécie humana não está completo (EICHLER, 2007) e que o ideal seria um sequenciamento individual completo, o que não está disponível no momento no mercado.

Dessa forma muitos solicitantes desse exame se deixam levar por uma curiosidade capaz de abalar seu psicológico ao ver seus resultados probabilísticos. Mas a análise do genoma não é a única parte da bioinformática que requer atenção ética. Vários outros desafios éticos surgem quando bioinformatas enfrentam questões como a segurança/privacidade tanto de dados armazenados quanto de dados transmitidos para os solicitantes, gerenciamento de erro em bases de dados e propriedade intelectual (TANERI, 2011). A nanotecnologia expressa a capacidade humana de controlar e manipular a matéria viva em uma escala muito pequena.

No contexto de terapias gênicas pautadas em informações extraídas de bancos de dados por exemplo, nanotecnologias devem passar por testes rigorosos até serem liberadas comercialmente, o que é outro ponto bioético dessa pauta.

Por fim mas não menos importante, a ética em pesquisa genética no que diz respeito às patentes e ao código aberto tem sido um tema polêmico, pois de um lado está o capitalismo das revistas científicas e reconhecimento profissional pautado em fatores de impacto e do outro a necessidade de uma maior velocidade da taxa de publicações e de visualizações, o que ocorre mais facilmente quando o acesso à informação científica é livre/gratuito (MARTURANO, 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Principal

O objetivo central desse trabalho é, a partir de predições *in silico*, averiguar como o polimorfismo existente na posição 950 da região genômica MIR137HG é capaz de dificultar a expressão do gene miR-137.

3.2 Objetivos Específicos

Realizar as seguintes predições *in silico* das sequências com e sem SNP:

- Regiões Promotoras;
- Estabilidade energética;
- Regiões de Ligação aos Fatores de Transcrição;
- Ilhas CpG;
- Grau de Torção da Dupla Hélice;
- enovelamento;
- Largura do Sulco Menor;
- Posicionamento Nucleossômico;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

PÁGINAS 71-72 INDISPONÍVEIS
(Em processo de submissão como artigo científico)

5 RESULTADOS

PÁGINAS 73-88 INDISPONÍVEIS
(Em processo de submissão como artigo científico)

6 DISCUSSÃO

PÁGINAS 89-94 INDISPONÍVEIS
(Em processo de submissão como artigo científico)

7 CONCLUSÃO

PÁGINA 95 INDISPONÍVEL
(Em processo de submissão como artigo científico)

8 PERSPECTIVAS

PÁGINA 96 INDISPONÍVEL
(Em processo de submissão como artigo científico)

REFERÊNCIAS

ADINOFF, B.; Neurobiologic processes in reward and adiction of drugs. Harvard Review of Psychiatry, Dallas, vol.12, nº6, p.305–320, 2004.

AIMONE, Jb et al; Regulation and function of adult neurogenesis: from genes to cognition. American Physiological Society (APS) Physiological Reviews, San Diego, vol.94, nº4, p.991-1026, Outubro de 2014.

ALENINA, N.; Klempin, F.; The role of serotonin in adult hippocampal neurogenesis; Behavioural Brain Research. Elsevier, Berlim, vol.277, p.49-57, Agosto de 2014.

ALEXANDER, R.P. et al; Annotating non-coding regions of the genome. Nature Reviews Genetics, New Haven, vol.11, n.8, p.559, 2010.

AL-TASSAN, N. et al; Inherited variants of MYH associated with somatic G:Cright → T:A mutations in colorectal tumors. Nature Genetics, Cardiff, vol.30, n.2, p.227, Janeiro de 2002.

AM, J.; Sweatt, J. D.; Pitt–Hopkins Syndrome: intellectual disability due to loss of TCF4-regulated gene transcription; Nature Publishing Group (NPG) Experimental, Birmingham, vol.45, fasc:5, p.21, Fevereiro de 2013.

ARARIPE N.; Ary; B., Rodrigo; B.; Filho, G.; Fisiopatologia da esquizofrenia: aspectos atuais. Revista de Psiquiatria Clínica, São Paulo, vol.34, p.198-203, Janeiro de 2007.

BAKOS, J. et al; The Role of Hypothalamic Neuropeptides in Neurogenesis and Neuritogenesis. Hindawi, Braxtislava, vol.2016, p.10-10, Novembro de 2015.

BASAK, I. et al; MicroRNAs as neuroregulators, biomarkers and therapeutic agents in neurodegenerative diseases. Cellular and Molecular Life Sciences, Nova lorque, vol.73, nº 4, p. 81-827, Novembro de 2015.

BASAR-EROGLU, C. et al; Altered alpha brain oscillations during multistable perception in schizophrenia. International Journal of Psychophysiology, Bremen, vol.103, p.118-128, Março de 2015.

BELL, A. et al; CpG island methylation profiling in human salivary gland adenoid cystic carcinoma. Cancer, Houston, Vol.117, n°13, p.2898-909, Julho de 2011.

BEVERIDGE, N.; Cairns, M.J.; MicroRNA dysregulation in schizophrenia; Neurobiology of disease. Elsevier, Callaghan, vol.46, fasc:2, p.263-271, Dezembro de 2011.

BISHOP, E.P. et al; A map of minor groove shape and electrostatic potential from hydroxyl radical cleavage patterns of DNA. ACS Chemical Biology, Boston, Vol.6, n°12, p.1314-20, Dezembro de 2011.

BIER, A. et al; MicroRNA-137 is downregulated in glioblastoma and inhibits the stemness of glioma stem cells by targeting RTVP-1. Oncotarget, Ramat-Gan, vol.4, n°5, p.665-76, Maio de 2013.

BOTCHKAREV, V.A.. Integration of the Transcription Factor-Regulated and Epigenetic Mechanisms in the Control of Keratinocyte Differentiation. The Journal of Investigative Dermatology Symposium, Boston, vol.17, 2015.

BRACHT, T. et al; White matter pathway organization of the reward system is related to positive and negative symptoms in schizophrenia. Schizophrenia Research, Berna, vol.153, p.136-142, Março de 2014.

BRAUN, S.; Jessberger, S.; Adult neurogenesis: mechanisms and functional significance. The Company of Biologists, Zurique, vol.141, p.1983-6, Maio de 2014.

BURNS, J.K.; Tomita, A.; Kapadia, A.S.; Income inequality and schizophrenia: Increased schizophrenia incidence in countries with high levels of income inequality. International Journal of Social Psychiatry (IJSP), Durban, vol.60, n°2, p.185-196, Abril de 2013.

CANANI, R. et al; Epigenetic mechanisms elicited by nutrition in early life. Nutrition Research Reviews, Naples, vol.24, N°2, p.98-205, Dezembro de 2011.

CAO, J.; The functional role of long non-coding RNAs and epigenetics. Springer, Shenzhen, vol.16, Setembro de 2014.

CHEN, X. et al; Epigenetics, microRNAs, and carcinogenesis: functional role of microRNA-137 in uveal melanoma. Biochemistry and Molecular Biology, Wenzhou, vol.52, fasc:3, p.1193-9, Setembro de 2010.

CHRISTOPHER, S.C.; Linking neural activity and molecular oscillations in the SCN. Nature Reviews Neuroscience, Los Angeles, vol.12, N°10, p.553, Setembro de 2011.

COLLINS, A.L. et al; Transcriptional targets of the schizophrenia risk gene MIR137. Nature Publishing Group (NPG), Chapel Hill, vol.4, p.404, Julho de 2014.

COUSIJIN, H. et al; No effect of schizophrenia risk genes MIR137, TCF4, and ZNF804A on macroscopic brain structure. Elsevier, Oxford, vol.159, fasc:2-3, p.329-33, Setembro de 2014.

CUMMINGS, D.M. et al; Adult neurogenesis is necessary to refine and maintain circuit specificity. The Journal of Neuroscience, Bethesda, vol.34, n°41, p.13801-10, Outubro de 2014.

CUMMINGS, E. et al; Mood congruent psychotic symptoms and specific cognitive deficits in carriers of the novel schizophrenia risk variant at miR-137. Elsevier, Dublin, vol.532, p.33-38, Setembro de 2012.

D'ANGELO, C. et al; Two New Cases of 1p21.3 Deletions and an Unbalanced Translocation t(8;12) among Individuals with Syndromic Obesity. Molecular Syndromology, São Paulo, vol.6, n°2, p.63-70, Janeiro de 2015.

DECRESSAC, M; Barker, R.A.; Neuropeptide Y and its role in CNS disease and repair. Elsevier, Lund, vol.238, fasc:2, p.265-272, Setembro de 2012.

DENG, D. et al; miR-137 acts as a tumor suppressor in astrocytoma by targeting RASGRF1. Springer, Jiangsu, vol.37, nº3, p.3331-3340, Março de 2016.

DONG, J. et al; Identifying the role of microRNAs in spinal cord injury. Springer, Xi'an, vol.35, p.1663-1671, Setembro de 2014.

DONG, S. et al; miR-137 acts as a tumor suppressor in papillary thyroid carcinoma by targeting CXCL12. Cengage Learning, Inc., Jilin, p.457, Abril de 2016.

DUAN, J. et al; A Rare Functional Noncoding Variant at the GWAS-Implicated MIR137/MIR2682 Locus Might Confer Risk to Schizophrenia and Bipolar Disorder. The American Journal of Human Genetics, Evanston, vol.95, p.744–753, Dezembro de 2014.

DYGA, K.; Stupak, R.; Meditation and psychosis: trigger or cure?Archives of Psychiatry and Psychotherapy, Cracóvia, vol.17, nº3, p.48-58, Junho de 2015.

EBERT, MS; Sharp, PA; MicroRNA sponges: Progress and possibilities. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Massachusetts, vol.16, Nº11, p.2043-2050, Novembro de 2010.

EGELAND, M.; Zunszain, P.A.; Pariante, C.M.; Molecular mechanisms in the regulation of adult neurogenesis during stress. Nature Reviews Neuroscience, Londres, vol,16, nº4, p.189, Abril de 2015.

EGGERS, A.E.; A serotonin hypothesis of Schizophrenia. Medical Hypotheses, Brooklyn, vol.80, nº6, p.791-794, Junho de 2013.

EICHLER, E. et al; Completing the map of human genetic variation. Nature, Seattle, vol.447, p.161-5, Maio de 2007.

EKIMLER, S.; Sahin, K.; Computational Methods for MicroRNA Target Prediction. The Journal Genes, Istanbul, vol.5, p.671-683, Agosto de 2014.

GREEN, M J et al; Genome-wide supported variant MIR137 and severe negative symptoms predict membership of an impaired cognitive subtype of schizophrenia. Nature Publishing Group (NPG), Sydney, vol.18, p.774, Junho de 2012.

GU, Q. et al; Clinical Significance of miR-137 Expression in Patients with Gastric Cancer After Radical Gastrectomy. PLoS ONE, Xi'na, vol.10, n°11, Novembro de 2015.

GUO, J. et al; miR-137 suppresses cell growth in ovarian cancer by targeting AEG-1. Elsevier, Heilongjiang, vol.441, n°2, p.357-363, Novembro de 2013.

HAAS, G et al; Identification of factors involved in target RNA-directed microRNA degradation. Nucleic Acids Research, Strasbourg, vol.44, n°6, p.2873-87, Janeiro de 2016.

HA, S.C. et al. Crystal structure of a junction between B-DNA and Z-DNA reveals two extruded bases. Nature, Suwon, vol.437, n.7062, pp.1183-6, 2005.

HAN, J.; Sarkar, A.; Gage, F.H.; MIR137: big impacts from small changes; Nature Medicine. Nature Publishing Group (NPG), San Diego, vol.18, n°7, p.931, Julho de 2015.

HAN,Y. et al; miR-137 suppresses the invasion and procedure of EMT of human breast cancer cell line MCF-7 through targeting CtBP1. Springer, Shandong, vol.29, n°1, p.30-36, Setembro de 2015.

HECKERS, S.; Neuroimaging studies of Hippocampus in Schizophrenia. Hippocampus, Massachusetts, vol.11, n°5, p.520–528, 2001.

HOBERT, O.; Regulation by Transcription Factors and MicroRNAs. Science, Nova Iorque, vol.319, p.1785-1786, Março de 2008.

HOLLA, B.; Thirthalli, J.; Course and Outcome of Schizophrenia in Asian Countries: Review of Research in the Past Three Decades. Elsevier, Bangalore, vol.14, p.3-12, Janeiro de 2015.

HOMMERS, L.; Domschke K.; Deckert J.; Heterogeneity and Individuality: microRNAs in Mental Disorders. Springer, Viena, vol.122, nº1, p.79-97, Novembro de 2014.

IGNATIEVA, E.V. et al; Genetic basis of olfactory cognition: extremely high level of DNA sequence polymorphism in promoter regions of the human olfactory receptor genes revealed using the 1000 Genomes Project dataset. Frontiers in Psychology, Novosibirsk, Vol.5, 2014.

IROBALIEVA, R.N. et al. Structural diversity of supercoiled DNA. Nature Communications, Houston, vol.6, 2015.

JOCA, S.; Padovan, C.; Guimarães, F.; Estresse, depressão e hipocampo, Revista Brasileira de Psiquiatria, São Paulo, vol.25, suplement. II, p.46-51, Janeiro de 2003.

KENDLER, K.S. et al; Smoking and Schizophrenia in Population Cohorts of Swedish Women and Men: A Prospective Co-Relative. The American Journal of Psychiatry, Richmond, vol:172; p.1092, Novembro de 2015.

KINNEY, D.K. et al; Relation of Schizophrenia Prevalence to Latitude, Climate, Fish Consumption, Infant Mortality, and Skin Color: A Role for Prenatal Vitamin D Deficiency and Infections? Schizophrenia Bulletin, Belmont, vol.35, nº3, p.582-595, Abril de 2009.

KHEIRBEK, M.; Finding the roots of adult neurogenesis. Cell, Nova Iorque, vol. 161, p.1500-1502, Junho de 2015.

KOTT, J.M. et al; Effectiveness of different corticosterone administration methods to elevate corticosterone serum levels, induce depressive-like behavior, and affect neurogenesis levels in female rats. Elsevier, Detroit, vol.312, p.201-14, Novembro de 2015.

GREEN, M J et al; Genome-wide supported variant MIR137 and severe negative symptoms predict membership of an impaired cognitive subtype of schizophrenia. Nature Publishing Group (NPG), Sydney, vol.18, p.774, Junho de 2012.

GU, Q. et al; Clinical Significance of miR-137 Expression in Patients with Gastric Cancer After Radical Gastrectomy. PLoS ONE, Xi'na, vol.10, nº11, Novembro de 2015.

GUO, J. et al; miR-137 suppresses cell growth in ovarian cancer by targeting AEG-1. Elsevier, Heilongjiang, vol.441, nº2, p.357-363, Novembro de 2013.

HAAS, G et al; Identification of factors involved in target RNA-directed microRNA degradation. Nucleic Acids Research, Strasbourg, vol.44, nº6, p.2873-87, Janeiro de 2016.

HA, S.C. et al. Crystal structure of a junction between B-DNA and Z-DNA reveals two extruded bases. Nature, Suwon, vol.437, n.7062, pp.1183-6, 2005.

HAN, J.; Sarkar, A.; Gage, F.H.; MIR137: big impacts from small changes; Nature Medicine. Nature Publishing Group (NPG), San Diego, vol.18, nº7, p.931, Julho de 2015.

HAN, Y. et al; miR-137 suppresses the invasion and procedure of EMT of human breast cancer cell line MCF-7 through targeting CtBP1. Springer, Shandong, vol.29, nº1, p.30-36, Setembro de 2015.

HECKERS, S.; Neuroimaging studies of Hippocampus in Schizophrenia. Hippocampus, Massachusetts, vol.11, nº5, p.520-528, 2001.

HOBERT, O.; Regulation by Transcription Factors and MicroRNAs. Science, Nova Iorque, vol.319, p.1785-1786, Março de 2008.

HOLLA, B.; Thirthalli, J.; Course and Outcome of Schizophrenia in Asian Countries: Review of Research in the Past Three Decades. Elsevier, Bangalore, vol.14, p.3-12, Janeiro de 2015.

HOMMERS, L.; Domschke K.; Deckert J.; Heterogeneity and Individuality: microRNAs in Mental Disorders. Springer, Viena, vol.122, nº1, p.79-97, Novembro de 2014.

IGNATIEVA, E.V. et al; Genetic basis of olfactory cognition: extremely high level of DNA sequence polymorphism in promoter regions of the human olfactory receptor genes revealed using the 1000 Genomes Project dataset. Frontiers in Psychology, Novosibirsk, Vol.5, 2014.

IROBALIEVA, R.N. et al. Structural diversity of supercoiled DNA. Nature Communications, Houston, vol.6, 2015.

JOCA, S.; Padovan, C.; Guimarães, F.; Estresse, depressão e hipocampo, Revista Brasileira de Psiquiatria, São Paulo, vol.25, suplem. II, p.46-51, Janeiro de 2003.

KENDLER, K.S. et al; Smoking and Schizophrenia in Population Cohorts of Swedish Women and Men: A Prospective Co-Relative. The American Journal of Psychiatry, Richmond, vol:172; p.1092, Novembro de 2015.

KINNEY, D.K. et al; Relation of Schizophrenia Prevalence to Latitude, Climate, Fish Consumption, Infant Mortality, and Skin Color: A Role for Prenatal Vitamin D Deficiency and Infections? Schizophrenia Bulletin, Belmont, vol.35, nº3, p.582-595, Abril de 2009.

KHEIRBEK, M.; Finding the roots of adult neurogenesis. Cell, Nova Iorque, vol. 161, p.1500-1502, Junho de 2015.

KOTT, J.M. et al; Effectiveness of different corticosterone administration methods to elevate corticosterone serum levels, induce depressive-like behavior, and affect neurogenesis levels in female rats. Elsevier, Detroit, vol.312, p.201-14, Novembro de 2015.

KRISTENSEN, D.; Myatt, W. M.; Treatment of Schizophrenia. Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies, Copenhagen, vol.8, nº1, p.1-2, 2011.

KUSWANTO, C.N., et al; The Impact of Genome Wide Supported MicroRNA-137 (MIR137) Risk Variants on Frontal and Striatum White Matter Integrity, Neurocognitive Functioning, and Negative Symptoms in Schizophrenia. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics, Cingapura, vol.168, nº5, p.317-326, Abril de 2015.

LANGEVIN, S. M. et al; MicroRNA-137 promoter methylation is associated with poorer overall survival in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. Elsevier, Pittsburgh, vol.117, nº7, p.1454-1462, Abril de 2011.

LEE, Star; Clemenson G.D.; Gage F.H.; New neurons in an aged brain; Behavioural Brain Research. Elsevier, San Diego, vol.227, nº2, p.497-507, Outubro de 2011.

LEPOUSEZ, G.; Nissant A.; Lledo P.M.; Adult Neurogenesis and the Future of the Rejuvenating Brain Circuits; Cell, Paris, vol.86, p.387-401, Abril de 2015.

LEVITSKY, V.G.; RECON: a program for prediction of nucleosome formation potential. Elsevier, Novosibirsk, Vol.32, p.W346-W349, Julho de 2004.

LI, Z.M. et al; MicroRNA-137 is downregulated in human osteosarcoma and regulates cell proliferation and migration through targeting FXRD6. PloS One, Harbin, vol.9, nº10, p.e109734, Outubro de 2014.

LI, Z.; Rana, T.; Therapeutic targeting of microRNAs: current status and future challenges. Nature Reviews, Massachusetts, vol.13, p.622-638, Julho de 2014.

LIU, B. et al; The Impact of MIR137 on Dorsolateral Prefrontal–Hippocampal Functional Connectivity in Healthy Subjects. Nature Publishing Group (NPG), Beijing, Abril de 2014.

LIU, L.L. et al; FoxD3-regulated microRNA-137 suppresses tumour growth and metastasis in human hepatocellular carcinoma by targeting AKT2. Oncotarget, Guangdong, vol.74, nº19, Suppl S, Julho de 2014.

MA, D. et al; Epigenetic choreographers of neurogenesis in the adult mammalian brain. Nature Neuroscience, San Francisco, vol.13, p.1338, Outubro de 2010.

MALIK, A. et al; Circadian Clock Genes Are Essential for Normal Adult Neurogenesis, Differentiation and Fate Determination. Plos one, Ohio, vol.10, Nº10, p.e0139655, Outubro de 2015. (a)

MALIK, A. et al; Development of circadian oscillators in neurosphere cultures during adult neurogenesis. PLoS One, Ohio, vol.10, p.e0122937, Março de 2015. (a)72.

MARTURANO, Antonio; Bioinformatics and ethics. Bioethics, Oxford, vol.23, nº7, p.ii-iii, Julho de 2009. (b)

MEERLO, P. et al; New neurons in the adult brain: The role of sleep and consequences of sleep loss. Elsevier, Groninga, vol.13, fasc:3, p.187-194, Outubro de 2008.

MELKA, M. et al; Insights into the origin of DNA methylation differences between monozygotic twins discordant for schizophrenia. Journal of Molecular Psychiatry, Ontario, vol.3, p.7, Junho de 2015.

MEYSMAN, P. et al; Use of structural DNA properties for the prediction of transcription-factor binding sites in *Escherichia coli*. Nucleic Acids Research, Antwerpen, Vol.39, nº2, p.e6-e6, 2011.

MEZA-SOSA, K.; Pedraza-Alva, G.; Pérez-Martínez, L.; MicroRNAs: key triggers of neuronal cell fate. Frontiers in Cellular Neuroscience, Cuernavaca, vol.8, artigo:175, Junho de 2014.

MILLAN, M.; An epigenetic framework for neurodevelopmental disorders: From pathogenesis to potential therapy. Elsevier, Paris, vol.68, p.2 nº81, Dezembro de 2012.

MIRESCU, C. et al; Sleep deprivation inhibits adult neurogenesis in the hippocampus by elevating glucocorticoids. Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), Princeton, vol.103, nº50, p.19170(6), Dezembro de 2006.

MONGIAT, L.; Schinder, A.F.; A price to pay for adult neurogenesis. Science, Bariloche, vol.344, p.594-5, Maio de 2014.

MUNSHI, A., Mohan, V., Ahuja, Y.R. Non-Coding RNAs: A Dynamic and Complex Network of Gene Regulation. J Pharmacogenomics Pharmacoproteomics, Hyderabad, vol.7:156, 2016.

NELSON, P.T.; Wang, W.X.; Rajeev, B.W.; MicroRNAs (miRNAs) in Neurodegenerative Diseases. Brain Pathology, Lexington, vol.18, nº1, p.130-138, Novembro de 2007.

NEWBURGER, P. et al; Mutations in the promoter region of the gene for GP91-PHOX in X-linked chronic granulomatous-disease with decreased expression of cytochrome b558. Journal of Clinical Investigation, Worcester, Vol.94, nº3, p.1205-1211, Setembro de 1994.

NGO, T.T.M.; Ha, Taekjip; Nucleosomes undergo slow spontaneous gaping. Nucleic Acids Research, Champaign, Vol.43, nº8, p.3964-71, Abril de 2015.

NISHIHARA, T. et al; miRISC recruits decapping factors to miRNA targets to enhance their degradation. Nucleic acids research, Tübingen, vol.41, nº18, p.8692-705, Julho de 2013.

OLIJSLAGERS, J., et al; Modulation of Midbrain Dopamine Neurotransmission by Serotonin, a Versatile Interaction Between Neurotransmitters and Significance for Antipsychotic Drug Action. Current Neuropharmacology, Amsterdam, vol.4, nº1, p.59-68, Setembro de 2005.

OPENDAK, M.; Gould, E.; Adult neurogenesis: a substrate for experience-dependent change. Cell, Princeton, vol.19, fasc:3, p.151-161, Março de 2015.

PATEL, V. et al; MIR137HG risk variant rs1625579 genotype is related to corpus callosum volume in schizophrenia. Elsevier, Albuquerque, Junho de 2015.

PAREDES, Mercedes F. et al; Brain Size and Limits to Adult Neurogenesis. Journal of Comparative Neurology, San Francisco, vol.524, nº3, p.646-664, Setembro de 2015.

PEREZ-COSTAS, E.; Melendez-ferro, Miguel ; Roberts, Rosalinda C.; Basal ganglia pathology in schizophrenia: dopamine connections and anomalies. Journal of Neurochemistry, Birmingham, vol.113, nº2, p.287-302, 2010.

PEREZ-IRATXETA, C.; Andrade-Navarro, Miguel A.; Wren, Jonathan D.; Evolving research trends in bioinformatics. Briefings in bioinformatics, Ottawa, Vol.8, nº2, p.88-95, Março de 2007.

QUAN, M.; Chen, J.; Zhang, D.; Exploring the secrets of long noncoding RNAs. Science, Beijing, p.1246, Março de 2015.

QUEDNOW, B.; Brzózka, M.M.; Rossner, M.J.; Transcription factor 4 (TCF4) and schizophrenia: integrating the animal and the human perspective. Springer, Basel, vol.71, p.2815-2835, Janeiro de 2014.

ROJCZYK-GOLEBIEWSKA, E; PALASZ, A; WIADERKIEWICZ, R; Hypothalamic Subependymal Niche: A Novel Site of the Adult Neurogenesis. Springer, Katowice, vol.34, nº5, p.631-642, Abril de 2014.

ROUTH, A.; Sandin, S.; Rhodes, D.; Nucleosome repeat length and linker histone stoichiometry determine chromatin fiber structure. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Cambridge, Vol.105, nº26, p.8872-7, Julho de 2008.

RUSK, N.; When microRNAs activate translation. Nature Methods, vol:5, p.122, Fevereiro de 2008.

RYAN, S.; Nolan, Y.M.; Neuroinflammation negatively affects adult hippocampal neurogenesis and cognition: can exercise compensate? Elsevier, Cork, vol.61, p.121-31, Dezembro de 2015.

SAÇAR, D.; Allmer, J.; Machine Learning Methods for MicroRNA Gene Prediction. Research Gate, Izmir, Janeiro de 2014.

SCHIAVON, A. et al; Influence of single and repeated cannabidiol administration on emotional behavior and markers of cell proliferation and neurogenesis in non-stressed mice. Elsevier, Maringá, vol.64, p.27-34, Julho de 2015.

SCHOENFELD, T.; Cameron, H.A.; Adult Neurogenesis and Mental Illness. Nature Publishing Group (NPG), Bethesda, Setembro de 2014.

SIEGERT, S. et al; The schizophrenia risk gene product miR-137 alters presynaptic plasticity. Nature Neuroscience, Massachusetts, Maio de 2010.

SMRT, R et al; MicroRNA miR-137 regulates neuronal maturation by targeting ubiquitin ligase Mind Bomb-1. National Institutes of Health, Albuquerque, Junho de 2010.

SONG, N-N. et al; Reducing central serotonin in adulthood promotes hippocampal neurogenesis. Nature Publishing Group (NPG), Tongji, vol.6, Fevereiro de 2016.

STRICK, T.R. et al; Behavior of Supercoiled DNA. Biophysical Journal, Paris, Vol.74, nº4, p.2016-2028, 1998.

STUBBS, B. et al; A meta-analysis of prevalence estimates and moderators of low bone mass in people with schizophrenia. Acta Psychiatrica Scandinavica, Kortenber, vol.130, nº6, p.470-486, Junho de 2014.

SUN, D.; Endogenous neurogenic cell response in the mature mammalian brain following traumatic injury. Elsevier, Richmond, vol.275, parte 3, p.405–410, Abril de 2015.

SUN, E.; Shi, Y.; MicroRNAs: Small molecules with big roles in neurodevelopment and diseases. Elsevier, Duarte, vol.268, p.46-53, Abril de 2014.

SUN, G. et al; Overexpressed miRNA-137 inhibits human glioma cells growth by targeting Rac1. Cancer Biotherapy and radiopharmaceuticals, Yancheng, vol.28, nº4, p.327-34, Maio de 2013.

SUZUKI, Y.; High prevalence of underweight and undernutrition in Japanese inpatients with schizophrenia. Psychiatry and Clinical Neurosciences, Niigata, vol.68, nº1, p.78-82, Julho de 2013.

TAKADA, S. et al; Impact of neonatal anoxia on adult rat hippocampal volume, neurogenesis and behavior. Behavioural Brain Research, São Paulo, vol.296, p.331-8, Setembro de 2015.

TAL, T.; Non-coding RNAs - Novel targets in neurotoxicity. Elsevier, Orvallis, vol.33, p.530-544, Fevereiro de 2012.

TANERI, B.; Is there room for ethics within bioinformatics education? Journal of computational biology, Famagusta, vol.18, p.907-916, Julho de 2011.

THIAVILLE, M.M. et al; Identification of PBX1 Target Genes in Cancer Cells by Global Mapping of PBX1 Binding Sites (Pbx1 Direct Target Genes in Ovarian Cancer Cells). PLoS ONE, Gainesville, Vol.7, nº5, p.e36054, Maio de 2012.

TSOI, S.C. et al; Hemispheric Asymmetry in New Neurons in Adulthood Is Associated with Vocal Learning and Auditory Memory. Plos one, Nova Iorque, vol.9, nº9, p.e108929, Setembro de 2014.

VAN ERP, T. et al; Schizophrenia miR-137 Locus Risk Genotype Is Associated with Dorsolateral Prefrontal Cortex Hyperactivation. Elsevier, Irvine, vol.75, p.398-405, Janeiro de 2013.

VAN GIAU, V.; An, S.S.; Emergence of exosomal miRNAs as a diagnostic biomarker for Alzheimer's disease. Elsevier, Seongnam, vol.360, p.141-52, Dezembro de 2015.

VOLVERT, M.L. et al; MicroRNAs tune cerebral cortical neurogenesis. Cell Death and Differentiation, Liège, vol.19, p.1573, Agosto de 2012.

WANG, W. et al; Genetic activation of ERK5 MAP kinase enhances adult neurogenesis and extends hippocampus-dependent long-term memory. The Journal of Neuroscience, Seattle, vol.34, p.2130-47, Maio de 2015.

WARBURTON, A. et al; A GWAS SNP for Schizophrenia Is Linked to the Internal MIR137 Promoter and Supports Differential Allele-Specific Expression. Schizophrenia bulletin, Liverpool, Vol.42, n°4, pp.1003-8, Outubro de 2015.

WESTHOLM, J.; Lai, C.; Mirtrons: MicroRNA biogenesis via splicing. Elsevier, Nova Iorque, vol.93, n°11, p.1897-1904, Novembro de 2011.

WHALLEY, H. et al; Impact of a microRNA MIR137 Susceptibility Variant on Brain Function in People at High Genetic Risk of Schizophrenia or Bipolar Disorder. Nature Publishing Group (NPG), Edinburgh, vol.37, p.2720, Agosto de 2012.

WILLIAMS, H.J. et al; Fine mapping of ZNF804A and genome-wide significant evidence for its involvement in schizophrenia and bipolar disorder. Nature Publishing Group (NPG), Cardiff, vol.16, p.429, Abril de 2010.

WRIGHT, C. et al; Potential Impact of miR-137 and Its Targets in Schizophrenia. Frontiers in Genetics, Albuquerque, vol.4, Abril de 2013.

XIU, Y. et al; MicroRNA-137 Upregulation Increases Bladder Cancer Cell Proliferation and Invasion by Targeting PAQR3. Plos one, Harbin, vol.9, p.e109734, Outubro de 2014.

YAGI, S. et al; Sex and Strategy Use Matters for Pattern Separation, Adult Neurogenesis, and Immediate Early Gene Expression in the Hippocampus. Hippocampus, Vancouver, vol.26, nº1, p.87-101, Julho de 2015.

YANG, Y.R. et al; MicroRNA-137 inhibits cell migration and invasion by targeting bone morphogenetic protein-7 (BMP7) in non-small cell lung cancer cells. International Journal Of Clinical And Experimental Pathology, Weihui, vol.8, nº9, p.10847-10853, Setembro de 2015.

YE, S. et al; Bioinformatics Method to Predict Two Regulation Mechanism: TF–miRNA–mRNA and lncRNA–miRNA–mRNA in Pancreatic Cancer; Cell Biochemistry and Biophysics. Springer, Zhejiang, vol.70, nº3, p.1849-1858, Agosto de 2014.

YIN, J. et al; miR-137: A New Player in Schizophrenia. International Journal of Molecular Science, Zhanjiang, vol.15, nº2, p.3262–3271, Fevereiro de 2014.

YOU, J-M. et al; Mechanism of glucocorticoid-induced oxidative stress in rat hippocampal slice cultures. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology (Revue canadienne de physiologie et pharmacologie), Atlanta, vol.87, nº6, p.440-447, Junho de 2009.

YUAN, J. et al; Lack of association between microRNA-137 SNP rs1625579 and schizophrenia in a replication study of Han Chinese. Molecular Genetics and Genomics, Berlim, vol.290, nº1, p.297-301, Setembro de 2014.

YUAN, T-F. et al; Oxidative Stress and Adult Neurogenesis. Springer, Nova Iorque, vol.11, p.706-709, Junho de 2015.

ZHANG, J. et al; Exosome and Exosomal MicroRNA: Trafficking, Sorting, and Function. Elsevier, Pequim, vol.13, nº1, p.17-24, Fevereiro de 2015.

ZHOU, T. et al; DNASHape: a method for the high-throughput prediction of DNA structural features on a genomic scale. Nucleic acids research, Los Angeles, Vol.41, p.W56-62, Julho de 2013.