

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

GUILHERME LUNARDON

**IMPACTO DA METILTRANSFERASE SET7 NA HIPERTROFIA CARDÍACA INDUZIDA
POR ISOPROTERENOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Biologia de Sistemas (Ciências morfofuncionais)

Orientadora: Profa. Dra. Gabriela Placoná Diniz

Versão original.

SÃO PAULO

2022

RESUMO

LUNARDON, G. Impacto da metiltransferase SET7 na hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol. 2022. Dissertação (Mestrado em Biologia de Sistemas – Ciências Morfofuncionais) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo. Estudos recentes mostraram a influência das enzimas modificadoras de histonas no remodelamento do coração e na insuficiência cardíaca. A metiltransferase SET7 regula a expressão de diversos genes por meio da metilação de proteínas histonas, além de influenciar a atividade de proteínas não histonas. Entretanto, o papel da SET7 na hipertrofia cardíaca permanece desconhecido. Para responder esta pergunta, injetamos isoproterenol (iso) ou salina (s) em camundongos machos wild type (WT) e knockout (KO) para SET7 por 14 dias. Os animais foram randomizados em quatro grupos: WTs (WT tratados com salina), KOs (KO tratados com salina), WTiso (WT tratados com isoproterenol) e KOiso (KO tratados com isoproterenol). A análise de western blotting mostrou que os corações dos animais WTiso exibiram redução da atividade da SET7 quando comparados aos seus respectivos controles. A análise de fracionamento subcelular revelou que a SET7 está localizada principalmente no citoplasma dos corações WTs e WTiso. Os animais WTiso e KOiso exibiram aumento do peso do coração e da área dos cardiomiócitos em relação a seus respectivos controles. Entretanto, os animais KOiso apresentaram maior peso do coração e área dos cardiomiócitos em comparação aos animais WTiso. A coloração de Sirius Red mostrou que tanto os camundongos WT quanto os KO tratados com isoproterenol tiveram aumento da fibrose cardíaca. No entanto, a perda da SET7 atenuou a fibrose miocárdica induzida por isoproterenol. O ecocardiograma mostrou que os camundongos WTiso apresentaram menor fração de ejeção, fração de encurtamento e maior razão E/A. Por outro lado, os camundongos KOiso não mostraram alterações nestes parâmetros. A análise de enriquecimento de vias dos dados do RNA-seq revelou que os processos biológicos relacionados às vias antioxidantes, respiração celular e resposta anti-inflamatória foram enriquecidos no coração dos animais KOiso em comparação aos animais WTiso. Por outro lado, os processos biológicos relacionados à senescência celular, produção de interferon e resposta imunológica foram reduzidos no coração dos animais KOiso em relação aos animais WTiso. Em conjunto, nossos dados sugerem que a deleção da SET7 exacerba a hipertrofia, atenua a fibrose e previne a insuficiência cardíaca induzida por isoproterenol.

Palavras-chave: Hipertrofia cardíaca. Isoproterenol. Metiltransferase. SET7. Insuficiência cardíaca.

ABSTRACT

LUNARDON, G. Impact of methyltransferase SET7 on isoproterenol-induced cardiac hypertrophy. 2022. Dissertation (Master thesis in Life Systems Biology – Morphofunctional Sciences) – Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo, Sao Paulo, 2022.

Cardiovascular diseases are the leading cause of death worldwide. Recent studies have revealed the influence of histone-modifying enzymes in cardiac remodeling and heart failure. The SET7 methyltransferase regulates the expression of several genes through methylation of histones and modulates the activity of non-histone proteins. However, the role of SET7 in cardiac hypertrophy remains unknown. To answer this question, wild type (WT) and SET7 knockout (KO) male mice were treated with isoproterenol (iso) or saline (s) subcutaneously for 14 days. The WTiso mice displayed decreased SET7 activity in the heart compared to WT mice. The mice were randomized in four groups: WT_s (WT mice treated with saline), KO_s (KO mice treated with saline), WT_{iso} (WT mice treated with isoproterenol), and KO_{iso} (KO mice treated with isoproterenol). Western blotting analysis showed that the hearts of WT_{iso} animals displayed decreased SET7 activity compared to their respective controls. Subcellular fractionation analysis revealed that SET7 is mainly located in the cytoplasm of WT_s and WT_{iso} hearts. WT_{iso} and KO_{iso} mice exhibited increased heart weight and cardiomyocyte area compared to their respective controls. However, KO_{iso} mice had higher heart weight and cardiomyocyte area compared to WT_{iso} mice. Sirius Red staining revealed that both WT and KO mice treated with isoproterenol had increased myocardial fibrosis. Nonetheless, loss of SET7 attenuated isoproterenol-induced myocardial fibrosis. Echocardiogram showed that WT_{iso} mice had lower ejection fraction and fractional shortening, and higher E/A ratio compared to their controls. Conversely, KO_{iso} mice did not show alteration on these parameters. Enrichment analysis of the RNA sequencing data revealed that biological processes related to oxidant detoxication, cellular respiration, and anti-inflammatory response were enriched in the heart of KO_{iso} mice compared to WT_{iso} mice. On the other hand, biological processes related to cell aging, interferon production, and immune response were downregulated in the heart of KO_{iso} mice compared to WT_{iso} mice. Collectively, our data suggest that SET7 deletion exacerbates isoproterenol-induced cardiac hypertrophy, attenuates cardiac fibrosis and prevents heart failure.

Key words: Cardiac hypertrophy. Isoproterenol. Methyltransferase. SET7. Heart failure.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Doenças cardiovasculares

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morte no mundo. Em 2019, 18,6 milhões de pessoas foram a óbito por doenças relacionadas ao sistema cardiovascular, equivalendo a aproximadamente 32% de todas as mortes no mundo (ROTH et al., 2020; VIRANI et al., 2020; WHO, 2021). Sendo enquadradas no grupo das doenças crônicas não transmissíveis, as doenças cardiovasculares possuem natureza etiológica heterogênea, podendo depender de fatores genéticos, hormonais e ambientais. Além disso, estudos preditivos indicaram um aumento na incidência dessas doenças devido ao envelhecimento populacional, urbanização e hábitos de vida não saudáveis (SUADES; COSENTINO, 2019). Isso destaca a importância da identificação dos mecanismos biológicos envolvidos no estabelecimento e progressão das doenças cardiovasculares.

Dentre as patologias que acometem o coração e o sistema vascular se destacam a doença coronariana, doença cerebrovascular e doença arterial periférica (WHO, 2021). Um estudo epidemiológico realizado no Brasil demonstrou que, em 2011, aproximadamente 384.615 pessoas morreram por afecções no sistema cardiovascular, sendo 14% delas decorrentes de doença cardíaca hipertensiva (RIBEIRO et al., 2016). Esse fato é preocupante visto que a hipertensão é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento da hipertrofia ventricular esquerda. Além da sobrecarga de volume e de pressão, a hipertensão também afeta a reatividade vascular. Juntas, estas alterações aumentam a pós-carga cardíaca, podendo levar a hipertrofia do coração (SHENASA; SHENASA, 2017).

1.2 Hipertrofia cardíaca

A hipertrofia cardíaca é definida como um aumento da massa do coração. Isso ocorre em resposta adaptativa ao maior esforço cardíaco frente aos diferentes estímulos que acabam promovendo a hipertrofia dos cardiomiócitos e, conseqüentemente, o aumento do órgão. A hipertrofia cardíaca pode ser classificada em compensada (ou “fisiológica”) ou descompensada (ou “patológica”) de acordo com o estímulo e evolução do quadro hipertrófico. Além disso, os diferentes tipos de hipertrofia cardíaca diferem em relação aos parâmetros funcionais, estruturais, metabólicos, bioquímicos e moleculares (BERNARDO et al., 2010; WU et al., 2017).

Na hipertrofia compensada não há comprometimento da função cardíaca. O coração apresenta função normal ou melhorada e aumento da câmara ventricular proporcional ao crescimento do coração. Essa hipertrofia é frequentemente associada ao treinamento físico

e gravidez e possui caráter reversível. Já na hipertrofia descompensada ocorre comprometimento da função sistólica e diastólica, associada ao aumento desproporcional do volume da câmara ventricular (Figura 1) (BERNARDO et al., 2010; NAKAMURA; SADOSHIMA, 2018). Além das alterações funcionais, na hipertrofia descompensada, observa-se um aumento na expressão de marcadores moleculares de hipertrofia como ANP, BNP, β -MHC e ACTA1 (BERNARDO et al., 2010; NAKAMURA; SADOSHIMA, 2018; WU et al., 2017).

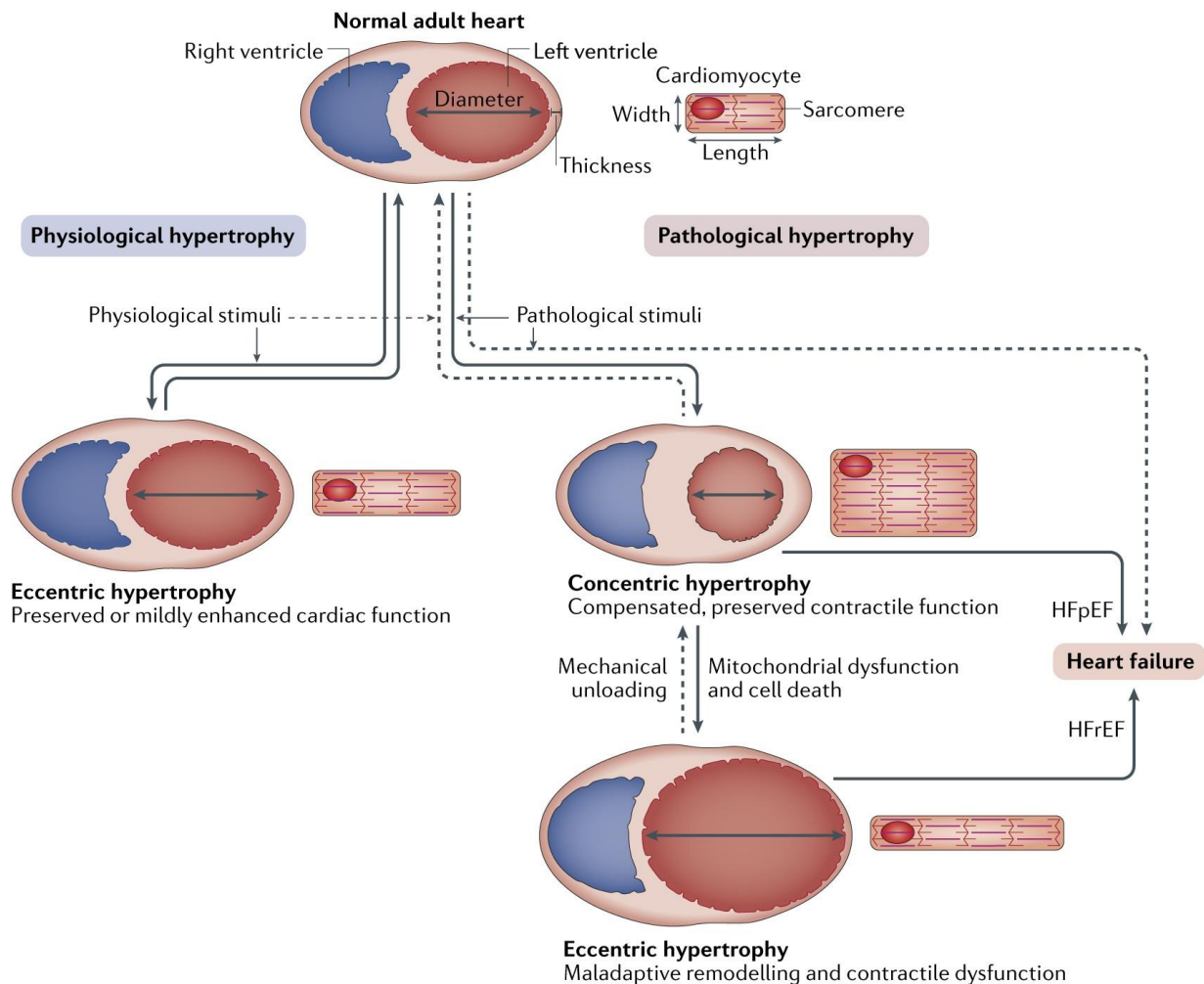


Figura 1. Visão geral dos tipos de hipertrofia cardíaca. O coração pode se adaptar frente à estímulos de origem fisiológica ou patológica. O desfecho funcional cardíaco está diretamente relacionado ao tipo e à persistência desses estímulos. Fonte: Retirado de NAKAMURA & SADOSHIMA (2018).

Os cardiomiócitos representam cerca de 1/3 da população celular no coração, mas constituem de 70 a 80% da massa cardíaca (BERNARDO et al., 2010). Estas células, responsáveis pela capacidade contrátil do coração, aumentam em tamanho e podem sofrer necrose e/ou apoptose em um estado mais progressivo da hipertrofia, induzindo mudanças

no perfil celular e na matriz extracelular que compõem o coração (WU et al., 2017). A morte dos cardiomiócitos estimula a proliferação e diferenciação de fibroblastos, os quais são essenciais para o remodelamento cardíaco. Ao serem ativados, os fibroblastos atuam inicialmente como um fator de proteção e de manutenção da estrutura tecidual, uma vez que houve perda de cardiomiócitos (SEGURA; FRAZIER; BUJA, 2014).

Os fibroblastos ativados, chamados de miofibroblastos, são células altamente especializadas que secretam colágenos e proteínas de matriz extracelular (DAVIS; MOKKENTIN, 2014; TALLQUIST; MOKKENTIN, 2017). Os miofibroblastos expressam e secretam fatores pró-inflamatórios, pró-fibróticos, MMP's e outras enzimas que degradam a matriz extracelular. Essas são as principais células responsáveis pela deposição de colágeno no tecido cardíaco e, conseqüentemente, pelo desenvolvimento da fibrose cardíaca. Esse perfil secretório dos miofibroblastos é ativado em resposta a diversos estímulos, como estresse mecânico e sinalização parácrina, neuroendócrina (Ang II, TGF- β , isoproterenol e aldosterona) e pró-inflamatória (TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-18) (DAVIS; MOKKENTIN, 2014; SEGURA; FRAZIER; BUJA, 2014; TRAVERS et al., 2016).

O tecido cardíaco adulto saudável possui de 3-4% de colágeno, sendo aproximadamente 85% do tipo I e 10% do tipo III. O remodelamento cardíaco que pode ocorrer na hipertrofia é acompanhado principalmente de um aumento na deposição de colágeno do tipo I, o qual confere rigidez ao tecido cardíaco. Essa deposição excessiva de colágeno do tipo I pode atingir até 90% da constituição do colágeno na matriz extracelular cardíaca, formando um tecido fibrótico que pode comprometer a função contrátil do coração (SEGURA; FRAZIER; BUJA, 2014). Dessa forma, a hipertrofia descompensada pode levar à insuficiência cardíaca devido ao comprometimento da capacidade contrátil do órgão (SEGURA; FRAZIER; BUJA, 2014; WU et al., 2017).

A contratilidade cardíaca é regulada pelo sistema nervoso simpático através de três tipos de receptores β -adrenérgicos (PFLEGER; GRESHAM; KOCH, 2019). O receptor mais expresso no tecido cardíaco saudável é o receptor β 1-adrenérgico (B1AR), que compreende 75–80% do conteúdo total desses receptores. Já o receptor β 2-adrenérgico (B2AR) e β 3-adrenérgico (B3AR) representam 15–18% e 2-3% do conteúdo total desses receptores no coração, respectivamente (BRODDE, 1993). Um modelo clássico de hipertrofia cardíaca descompensada consiste em injetar isoproterenol em camundongos. O isoproterenol é um agonista inespecífico dos receptores β -adrenérgicos. A partir da sua ligação ao receptor β 1-adrenérgico (B1AR) no coração, há o desacoplamento da subunidade G α s, a qual ativa a adenilato ciclase, aumentando a concentração AMPc intracelular. O AMPc ativa a PKA, a qual fosforila diversos substratos importantes para

regulação da contratilidade cardíaca. Dessa forma, o isoproterenol é capaz de induzir aumento do inotropismo (força), cronotropismo (frequência) e lusitropismo (relaxamento) do coração (Figura 2) (COLOMBE; PIDOUX, 2021). Além da via clássica, outras vias intracelulares são ativadas pelo isoproterenol, como a via da PI3K/AKT/mTOR e MEK/ERK1/2 (FAN et al., 2019; LI; ZHANG; WANG, 2017; ZHANG et al., 2016), as quais estão envolvidas no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca. A ativação dessas vias de sinalização ocorre *in vivo* e *in vitro*, contribuindo para o aumento da expressão de genes hipertróficos como β -MHC, ANP e BNP (GUO et al., 2018; LU et al., 2016; TANG et al., 2018). Dessa forma, o isoproterenol induz aumento da massa (hipertrofia) e fibrose cardíaca (CAMPOS et al., 2006).

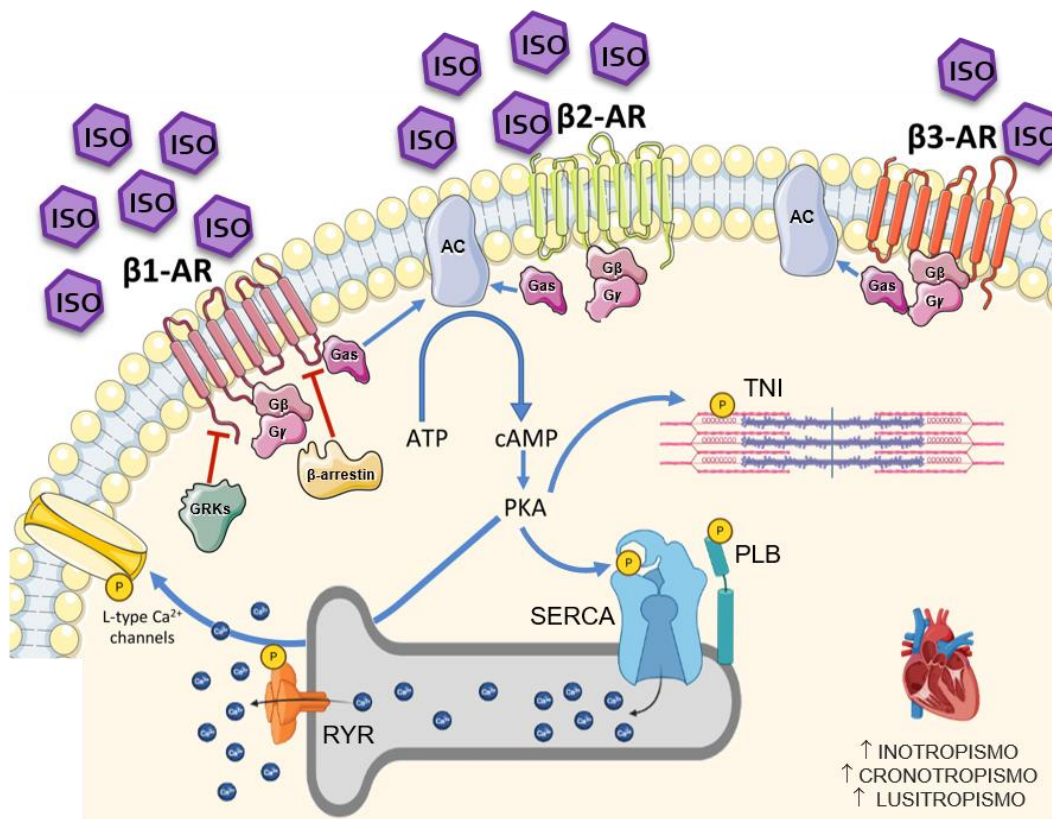


Figura 2. Vias de sinalização ativadas pelo isoproterenol em cardiomiócitos. A ligação do isoproterenol ao B1AR no coração ativa diversas vias de sinalização que levam ao aumento do inotropismo, cronotropismo e lusitropismo cardíaco. Fonte: Adaptado de LUCIA, EGUCHI & KOCH (2018).

1.3 Papel das enzimas modificadoras de histonas na hipertrofia cardíaca

Segundo Berger et al. (2009), a epigenética é definida como um fenótipo hereditário estável resultante de mudanças cromossômicas sem alteração na sequência de DNA. A modificação do fenótipo a partir das alterações epigenéticas pode ser dividida em quatro

categorias: metilação do DNA, remodelamento da cromatina, regulação por RNAs não codificantes e modificações em histonas (PAPAIT et al., 2013). Compreender a estrutura de um nucleossomo (unidade fundamental da cromatina) é essencial para o entendimento dos mecanismos de modificação das histonas na regulação da expressão gênica. Em um nucleossomo, cerca de 147 pares de bases do DNA se enovelam ao redor de uma estrutura octamérica constituída por dímeros de quatro histonas: H3, H4, H2A e H2B. As modificações das histonas decorrem da inserção ou retirada de resíduos nos aminoácidos presentes em suas caudas livres, por meio de acetilação, metilação, fosforilação, ubiquitinação, ribosilação ou sumoilação (KOUZARIDES, 2007; ROMANI; PISTILLO; BANELLI, 2015).

Essas modificações nas histonas podem reprimir ou ativar a expressão gênica através da alteração da conformação da cromatina, fazendo com que genes sejam mais ou menos acessados pela maquinaria de transcrição. Por exemplo, a metilação de resíduos de lisina nas histonas H3 ou H4 pode tanto ativar quanto reprimir a transcrição gênica, enquanto a acetilação desses resíduos geralmente se restringe à ativação da transcrição gênica (MARTIN; ZHANG, 2005).

Diversos trabalhos desenvolvidos na última década indicam que fatores ambientais como tabagismo, poluição, hábitos de vida não saudáveis e estresse podem levar a alterações no perfil epigenético do sistema cardiovascular, contribuindo para o desenvolvimento de doenças nesse sistema (SUADES; COSENTINO, 2019).

Nesse sentido, estudos prévios mostram que diversos mecanismos epigenéticos estão relacionados ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca, especialmente decorrente da hipertrofia patológica do coração. Dentre os mecanismos epigenéticos descritos no controle da hipertrofia cardíaca, destacam-se a metilação do DNA, acetilação e metilação de histonas e regulação pós-transcricional por RNAs não codificantes (PAPAIT et al., 2013).

Estudos funcionais de ganho ou perda de função realizados em camundongos e culturas de cardiomiócitos identificaram o papel de algumas enzimas modificadoras de histonas no estabelecimento da hipertrofia cardíaca. Nesse contexto, o silenciamento da histona deacetilase SIRT6 atenuou a hipertrofia dos cardiomiócitos induzida por isoproterenol através do aumento da autofagia (LU et al., 2016). De forma similar, a inibição da lisina demetilase JMJD3 foi capaz de prevenir a hipertrofia no mesmo modelo *in vitro*, a qual foi atribuída à redução na expressão de β -MHC (GUO et al., 2018). Já em um outro modelo de hipertrofia induzida por Ang II em camundongos foi evidenciado um aumento da lisina metiltransferase SET1 que, ao ser silenciada, atenuou o desenvolvimento da

hipertrofia, fibrose e insuficiência cardíaca (YU et al., 2015). Juntos, esses trabalhos sugerem a participação de enzimas modificadoras de histonas no controle do remodelamento e da função cardíaca. No entanto, o papel da metiltransferase SET7 no desenvolvimento da hipertrofia e insuficiência cardíaca permanece desconhecido.

1.4 Metiltransferase SET7

A SET7, uma enzima da classe das metiltransferases, também conhecida como SETD7, SET9, SET7/9 ou KMT7, é responsável pela regulação da expressão de inúmeros genes, principalmente a partir da monometilação em H3K4 (ZHANG; HUANG; SHI, 2015) (Figura 3). Ainda, a SET7 pode metilar várias proteínas não histonas envolvidas em diversos eventos fisiológicos e patológicos, como DNMT1, E2F1, FOXO3, PDX1, P53, P65, RB, STAT3 e TAF10 (CALNAN et al., 2012; CHUIKOV et al., 2004; EA; BALTIMORE, 2009; ESTEVE et al., 2009; HAMIDI et al., 2018; KONTAKI; TALIANIDIS, 2010; KOUSKOUTI et al., 2004; LIU et al., 2019; MAGANTI et al., 2015; MUNRO et al., 2010; SUBRAMANIAN et al., 2008; WANG et al., 2009; YANG et al., 2010; ZHANG; HUANG; SHI, 2015). Em células endoteliais, a deleção da SET7 altera a expressão de mais de 8.000 genes demonstrando, portanto, o papel crítico que esta enzima exerce na regulação da expressão gênica (KEATING et al., 2014).

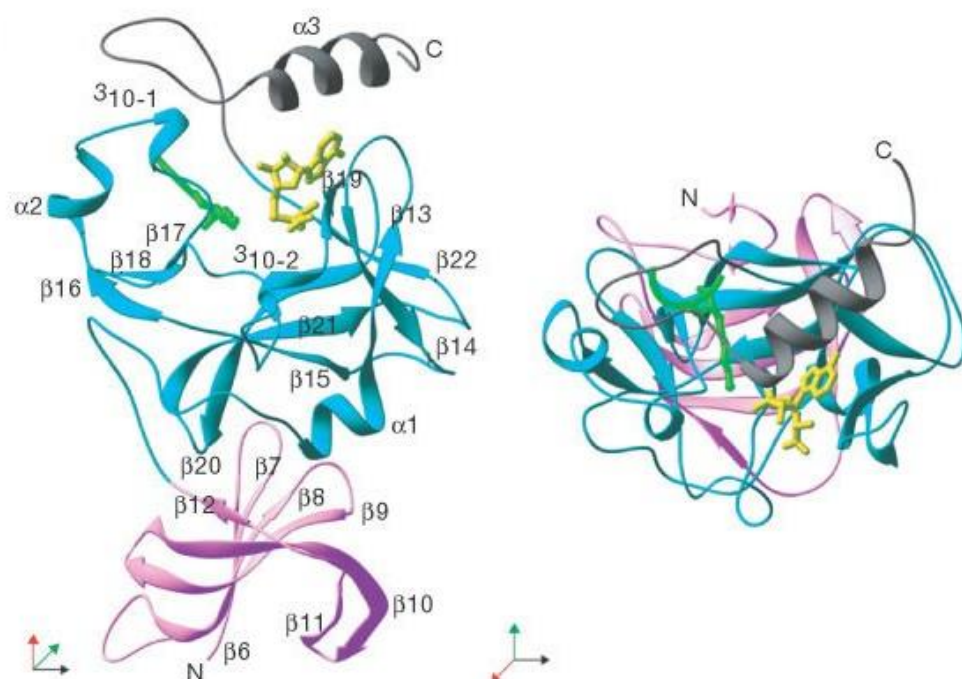


Figura 3. Estrutura tridimensional da SET7. A porção N-terminal está representada em rosa, o domínio SET se encontra destacado em azul e a porção C-terminal se encontra em cinza. Nessa figura, podemos observar a metilação em H3K4 (em verde) a partir da sua

interação com a SET7. Também observamos a presença do cofator S-adenosil-L-homocisteína em amarelo. Fonte: Retirado de XIAO et al. (2003).

1.5 Efeito da SET7 em vias relacionadas à hipertrofia cardíaca

Em cardiomiócitos adultos, a SET7 influencia a homeostase do cálcio e a atividade contrátil dessas células por meio da regulação da expressão dos genes codificadores das proteínas CASQ2 e RYR2 envolvidas na captação e armazenamento do cálcio no retículo sarcoplasmático (LEE et al., 2018). O fluxo de cálcio é um dos processos mais importantes para a contração do coração e da célula muscular lisa. Alterações na homeostasia do cálcio em cardiomiócitos podem causar arritmias e insuficiência cardíaca, enquanto que alterações no fluxo de cálcio nas células musculares lisas podem induzir hipertensão (GHIGO et al., 2017). No entanto, até o momento não se sabe se a SET7 pode influenciar o desenvolvimento da hipertensão.

Camundongos com cardiomiopatia diabética induzida por estreptozotocina apresentam um aumento na expressão da SET7 e na metilação dos resíduos de H3K4 no coração (MALEK; SHARMA; GAIKWAD, 2019). No entanto, ainda não está claro se a SET7 pode afetar o desenvolvimento da hipertrofia e insuficiência cardíaca.

1.6 Efeito da SET7 em vias relacionadas à fibrose cardíaca

Em um estudo de RNA-seq, realizado em células endoteliais, observou-se que a depleção da SET7 aumenta a expressão dos genes COL3A1 e COL1A2 (KEATING; EL-OSTA, 2013), sugerindo a importância da SET7 na regulação de genes relacionados à fibrose. Nos pulmões, a SET7 mostrou potencializar a sinalização do TGF- β , através da metilação da SMAD7. Dessa forma, a SMAD7 não é capaz de inibir a expressão de genes que codificam proteínas da matriz extracelular, o que leva à fibrose no órgão. Por outro lado, a inibição da SET7 aumentou a sinalização da SMAD7 e reduziu a expressão dos genes fibróticos e a fibrose pulmonar (ELKOURIS et al., 2016). O papel da SET7 no desenvolvimento da fibrose renal também foi caracterizado. Análise de biópsias de pacientes com nefropatia indicou uma correlação positiva entre o nível de expressão da SET7 e o nível de fibrose renal. De forma similar, a inibição farmacológica (com sinefungina) ou o silenciamento (com RNA de interferência) da SET7 reduziu a monometilação de H3K4 e a expressão de proteínas de matriz extracelular em rins de camundongos com fibrose renal (SASAKI et al., 2016).

Apesar de estudos recentes terem demonstrado o papel da SET7 no desenvolvimento da fibrose renal e pulmonar, até o momento não se sabe se a SET7 poderia influenciar o desenvolvimento da fibrose cardíaca.

2. CONCLUSÃO

Com base nos experimentos obtidos nesse estudo, podemos concluir que:

- A atividade da SET7 diminuiu nos corações dos animais WT tratados com isoproterenol;
- A SET7 se encontrou enriquecida na fração citoplasmática das células cardíacas;
- A deleção da SET7 exacerbou a hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol;
- A deleção da SET7 atenuou a fibrose cardíaca induzida por isoproterenol;
- A deleção da SET7 preveniu a disfunção sistólica e atrasou a progressão da disfunção diastólica induzida por isoproterenol;
- A deleção da SET7 alterou processos biológicos relacionados ao estresse oxidativo, inflamação e senescência celular no coração em resposta ao isoproterenol.

REFERÊNCIAS

BERGER, S. L. et al. An operational definition of epigenetics. **Genes & Development**, v. 23, n. 7, p. 781–783, 1 abr. 2009.

BERNARDO, B. C. et al. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 128, n. 1, p. 191–227, out. 2010.

BRODDE, O.-E. Beta-adrenoceptors in cardiac disease. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 60, n. 3, p. 405–430, jan. 1993.

CALNAN, D. R. et al. Methylation by Set9 modulates FoxO3 stability and transcriptional activity. **Aging**, v. 4, n. 7, p. 462–479, 21 jul. 2012.

CAMPOS, L. A. et al. Enhanced isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in transgenic rats with low brain angiotensinogen. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 291, n. 5, p. H2371–H2376, nov. 2006.

CHUIKOV, S. et al. Regulation of p53 activity through lysine methylation. **Nature**, v. 432, n. 7015, p. 353–360, 3 nov. 2004.

COLOMBE, A.-S.; PIDOUX, G. Cardiac cAMP-PKA Signaling Compartmentalization in Myocardial Infarction. **Cells**, v. 10, n. 4, p. 922, 16 abr. 2021.

DAVIS, J.; MOLKENTIN, J. D. Myofibroblasts: Trust your heart and let fate decide. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 70, p. 9–18, maio 2014.

EA, C.-K.; BALTIMORE, D. Regulation of NF- κ B activity through lysine monomethylation of p65. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 45, p. 18972–18977, 10 nov. 2009.

ELKOURIS, M. et al. SET9-Mediated Regulation of TGF- β Signaling Links Protein Methylation to Pulmonary Fibrosis. **Cell Reports**, v. 15, n. 12, p. 2733–2744, jun. 2016.

ESTEVE, P.-O. et al. Regulation of DNMT1 stability through SET7-mediated lysine methylation in mammalian cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 13, p. 5076–5081, 31 mar. 2009.

FAN, C. et al. Qi-Li-Qiang-Xin Alleviates Isoproterenol-Induced Myocardial Injury by Inhibiting Excessive Autophagy via Activating AKT/mTOR Pathway. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, 12 nov. 2019.

GHIGO, A. et al. PI3K and Calcium Signaling in Cardiovascular Disease. **Circulation Research**, v. 121, n. 3, p. 282–292, 21 jul. 2017.

GUO, Z. et al. JMJD3 inhibition protects against isoproterenol-induced cardiac hypertrophy by suppressing β -MHC expression. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 477, n. April, p. 1–14, dez. 2018.

HAMIDI, T. et al. Identification of Rpl29 as a major substrate of the lysine

methyltransferase Set7/9. **Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n. 33, p. 12770–12780, 17 ago. 2018.

KEATING, S.; EL-OSTA, A. Transcriptional regulation by the Set7 lysine methyltransferase. **Epigenetics**, v. 8, n. 4, p. 361–372, 27 abr. 2013.

KEATING, S. T. et al. Deep sequencing reveals novel Set7 networks. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 71, n. 22, p. 4471–4486, 30 nov. 2014.

KONTAKI, H.; TALIANIDIS, I. Lysine Methylation Regulates E2F1-Induced Cell Death. **Molecular Cell**, v. 39, n. 1, p. 152–160, jul. 2010.

KOUSKOUTI, A. et al. Gene-Specific Modulation of TAF10 Function by SET9-Mediated Methylation. **Molecular Cell**, v. 14, n. 2, p. 175–182, abr. 2004.

KOUZARIDES, T. Chromatin Modifications and Their Function. **Cell**, v. 128, n. 4, p. 693–705, fev. 2007.

LEE, J. et al. SETD7 Drives Cardiac Lineage Commitment through Stage-Specific Transcriptional Activation. **Cell Stem Cell**, v. 22, n. 3, p. 428–444.e5, mar. 2018.

LI, X.; ZHANG, Z.-L.; WANG, H.-F. Fusaric acid (FA) protects heart failure induced by isoproterenol (ISP) in mice through fibrosis prevention via TGF- β 1/SMADs and PI3K/AKT signaling pathways. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 93, p. 130–145, set. 2017.

LIU, Z. et al. Resveratrol induces p53 in colorectal cancer through SET7/9. **Oncology Letters**, p. 3783–3789, 13 fev. 2019.

LU, J. et al. SIRT6 suppresses isoproterenol-induced cardiac hypertrophy through activation of autophagy. **Translational Research**, v. 172, n. March, p. 96–112.e6, jun. 2016.

LUCIA, C. DE; EGUCHI, A.; KOCH, W. J. New Insights in Cardiac β -Adrenergic Signaling During Heart Failure and Aging. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 10 ago. 2018.

MAGANTI, A. V. et al. Transcriptional Activity of the Islet β Cell Factor Pdx1 Is Augmented by Lysine Methylation Catalyzed by the Methyltransferase Set7/9. **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 15, p. 9812–9822, 10 abr. 2015.

MALEK, V.; SHARMA, N.; GAIKWAD, A. B. Simultaneous inhibition of neprilysin and activation of ACE2 prevented diabetic cardiomyopathy. **Pharmacological Reports**, v. 71, n. 5, p. 958–967, out. 2019.

MARTIN, C.; ZHANG, Y. The diverse functions of histone lysine methylation. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 6, n. 11, p. 838–849, nov. 2005.

MUNRO, S. et al. Lysine methylation regulates the pRb tumour suppressor protein. **Oncogene**, v. 29, n. 16, p. 2357–2367, 8 abr. 2010.

NAKAMURA, M.; SADOSHIMA, J. Mechanisms of physiological and pathological cardiac hypertrophy. **Nature Reviews Cardiology**, v. 15, n. 7, p. 387–407, 19 jul. 2018.

PAPAIT, R. et al. Epigenetics: a new mechanism of regulation of heart failure? **Basic Research in Cardiology**, v. 108, n. 4, p. 361, 6 jul. 2013.

PFLEGER, J.; GRESHAM, K.; KOCH, W. J. G protein-coupled receptor kinases as therapeutic targets in the heart. **Nature Reviews Cardiology**, v. 16, n. 10, p. 612–622, 11 out. 2019.

RIBEIRO, A. L. P. et al. Cardiovascular Health in Brazil. **Circulation**, v. 133, n. 4, p. 422–433, 26 jan. 2016.

ROMANI, M.; PISTILLO, M. P.; BANELLI, B. Environmental Epigenetics: Crossroad between Public Health, Lifestyle, and Cancer Prevention. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–13, 2015.

ROTH, G. A. et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 76, n. 25, p. 2982–3021, dez. 2020.

SASAKI, K. et al. Inhibition of SET Domain–Containing Lysine Methyltransferase 7/9 Ameliorates Renal Fibrosis. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 27, n. 1, p. 203–215, jan. 2016.

SEGURA, A. M.; FRAZIER, O. H.; BUJA, L. M. Fibrosis and heart failure. **Heart Failure Reviews**, v. 19, n. 2, p. 173–185, 4 mar. 2014.

SHENASA, M.; SHENASA, H. Hypertension, left ventricular hypertrophy, and sudden cardiac death. **International Journal of Cardiology**, v. 237, p. 60–63, jun. 2017.

SUADES, R.; COSENTINO, F. The environment, epigenetic landscape and cardiovascular risk. **Cardiovascular Research**, 23 jun. 2019.

SUBRAMANIAN, K. et al. Regulation of Estrogen Receptor α by the SET7 Lysine Methyltransferase. **Molecular Cell**, v. 30, n. 3, p. 336–347, maio 2008.

TALLQUIST, M. D.; MOLKENTIN, J. D. Redefining the identity of cardiac fibroblasts. **Nature Reviews Cardiology**, v. 14, n. 8, p. 484–491, 24 ago. 2017.

TANG, G. et al. Klotho attenuates isoproterenol-induced hypertrophic response in H9C2 cells by activating Na⁺/K⁺-ATPase and inhibiting the reverse mode of Na⁺/Ca²⁺-exchanger. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal**, v. 54, n. 3, p. 250–256, 17 mar. 2018.

TRAVERS, J. G. et al. Cardiac Fibrosis. **Circulation Research**, v. 118, n. 6, p. 1021–1040, 18 mar. 2016.

VIRANI, S. S. et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2020 Update: A Report From the American Heart Association. **Circulation**, v. 141, n. 9, 3 mar. 2020.

WANG, J. et al. The lysine demethylase LSD1 (KDM1) is required for maintenance of global DNA methylation. **Nature Genetics**, v. 41, n. 1, p. 125–129, 21 jan. 2009.

WHO. **Cardiovascular diseases (CVDs)**.

WU, Q.-Q. et al. Mechanisms contributing to cardiac remodelling. **Clinical Science**, v. 131, n. 18, p. 2319–2345, 15 set. 2017.

XIAO, B. et al. Structure and catalytic mechanism of the human histone methyltransferase SET7/9. **Nature**, v. 421, n. 6923, p. 652–656, 22 fev. 2003.

YANG, J. et al. Reversible methylation of promoter-bound STAT3 by histone-modifying enzymes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 50, p. 21499–21504, 14 dez. 2010.

YU, L. et al. Histone Methyltransferase SET1 Mediates Angiotensin II–Induced Endothelin-1 Transcription and Cardiac Hypertrophy in Mice. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 35, n. 5, p. 1207–1217, maio 2015.

ZHANG, X.; HUANG, Y.; SHI, X. Emerging roles of lysine methylation on non-histone proteins. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 72, n. 22, p. 4257–4272, 2015.

ZHANG, Y. et al. Hydrogen (H₂) Inhibits Isoproterenol-Induced Cardiac Hypertrophy via Antioxidative Pathways. **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, 27 out. 2016.