

BIOMARCADORES EPIGENÉTICOS COMO PREDITIVOS DE SUSCETIBILIDADE OU RESILIÊNCIA AO TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR EM CAMUNDONGOS

CARLA DE BORBA AMARAL¹; Jaqueline Rutz Burkle, Vinícius Farias Campos, William Borges Domingues, Lais dos Santos Gonçalves, Lucas P de Souza, Hadassa Gabriela Ortiz, ROBERTO FARINA DE ALMEIDA LUCAS SANTOS SILVA²; ROBERTO FARINA DE ALMEIDA

¹UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS 1 – carlaamaralfarma@gmail.com 1

²Universidade federal De Pelotas– roberto.almeida.ufpel@gmail.com

³MacMasterUniversity – lucassantos_17@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) é um dos transtornos psiquiátricos mais prevalentes no mundo, afetando milhões de pessoas e representando uma das principais causas de incapacidade global (World Health Organization, 2023). Sua etiologia é complexa e multifatorial, envolvendo interações entre fatores genéticos, ambientais e epigenéticos, que modulam a expressão gênica e influenciam a suscetibilidade individual às patologias (Nestler et al., 2016).

Nos últimos anos, a epigenética tem se destacado como um campo promissor na investigação dos mecanismos moleculares associados ao TDM. Modificações epigenéticas, como a metilação do DNA, atuam como reguladores dinâmicos da atividade gênica sem alterar a sequência do DNA, permitindo respostas adaptativas ao ambiente (Sullivan, Neale, & Kendler, 2000). Evidências indicam que perfis de metilação podem estar associados tanto à vulnerabilidade quanto à resiliência frente ao estresse crônico, um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento do TDM (Bagot et al., 2014; Peña et al., 2019).

Modelos animais, como o estresse crônico moderado e imprevisível (Chronic Unpredictable Mild Stress – CUMS) em camundongos, têm sido amplamente utilizados para investigar os mecanismos neurobiológicos e moleculares do TDM. Esse modelo mimetiza com alto poder translacional o impacto que o estresse pode induzir nos indivíduos, permitindo o estudo das bases epigenéticas de suscetibilidade ou resiliência ao estresse (Willner, 2017; Antoniuk et al., 2019). A identificação de biomarcadores epigenéticos associados a esses fenótipos pode apresentar potencial inovação para aprimorarmos os conhecimentos sobre predição do risco individual aos efeitos deletérios do estresse, e consequentemente o desenvolvimento do TDM, possibilitando ainda, subsidiar estratégias de prevenção e tratamento personalizados (Nestler et al., 2016; Kim et al., 2021).

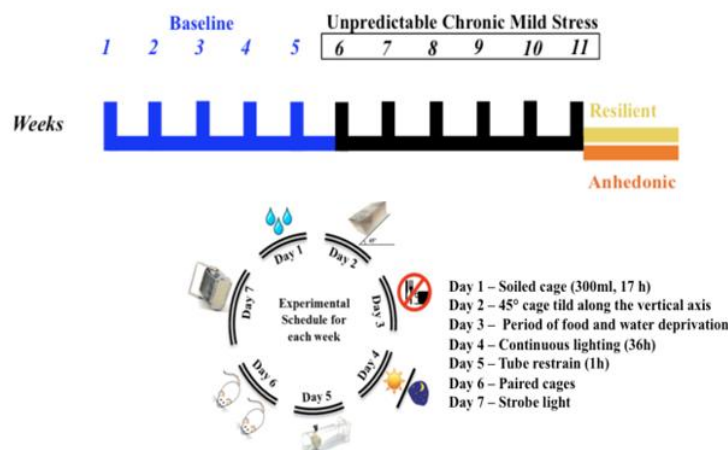
Dessa forma, este estudo tem como principal objetivo investigar o perfil de metilação global do DNA em diferentes estruturas cerebrais de indivíduos suscetíveis e resilientes ao estresse.

2. METODOLOGIA

Vinte e sete (27) camundongos machos C57BL/6 de 6 a 8 semanas, oriundos do biotério central da Universidade Federal de Pelotas foram obtidos para o estudo (7 controles e 20 intervenção). Após período de adaptação ao biotério (1 semana),

os animais foram submetidos ao teste de consumo de sacarose individual. Após jejum hídrico e alimentar de 5 horas uma solução de sacarose 1% foi disponibilizada e o volume consumido por cada indivíduo foi mensurado. Cinco semanas após treinamento do consumo de sacarose, foi estabelecido a média de consumo de cada animal (Baseline). Na semana seguinte 20 camundongos foram submetidos ao protocolo do CUMS (6 semanas) e o consumo de sacarose foi avaliado semanalmente. Durante todo o período o peso dos animais foi aferido. Abaixo, o delineamento experimental é ilustrado (Figura 1).

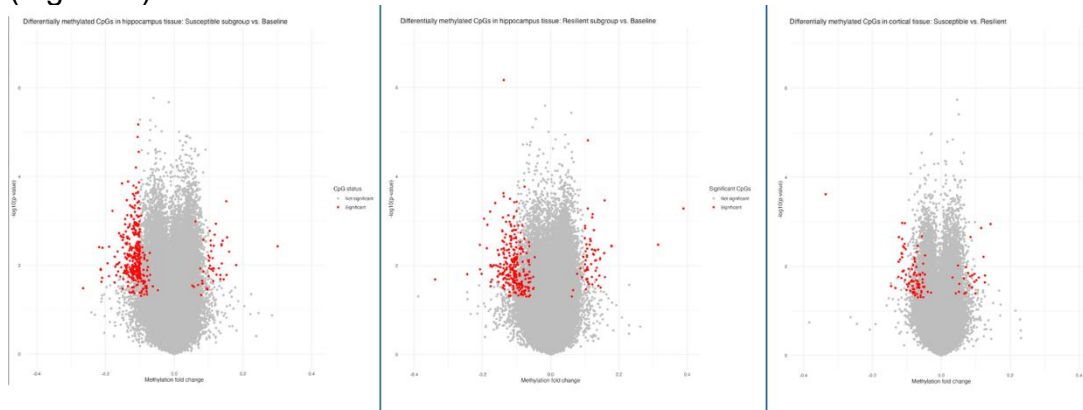
Após avaliação dos parâmetros hedônicos dos grupos, os animais foram eutanasiados com isoflurano puro, estrutura cerebral de córtex pré-frontal e hipocampo foram obtidos. O DNA foi extraído, realizou-se a conversão das Citosinas não metiladas em Uracila (kit zymo research) e posteriormente o ensaio de metilação global do DNA utilizando a plataforma *Illumina Infinium Mouse Methylation BeadChip* foi realizado. Através de técnicas de bioinformática os padrões de metilação comparando os diferentes grupos experimentais (controle X suscetível ao CUMS



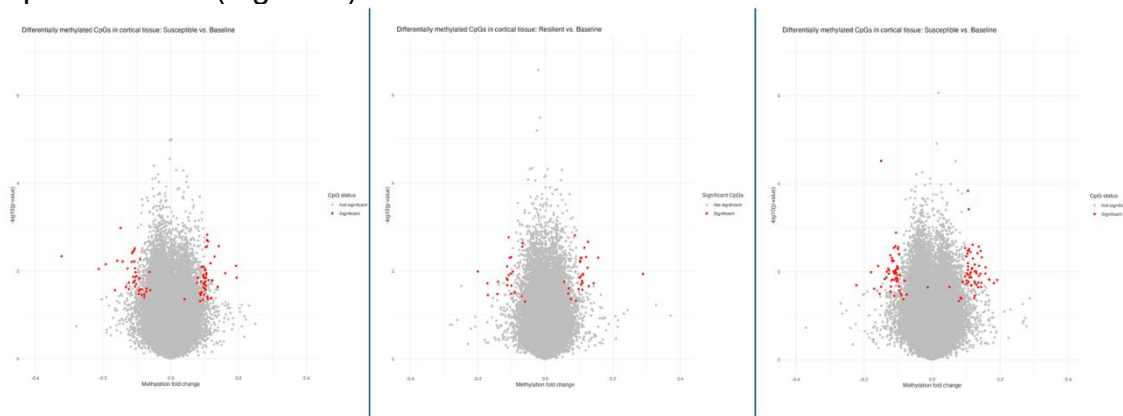
2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 275458 sítios CPGs analisados, uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de metilação do DNA de 387 sítios CpG na região cerebral do hipocampo comparando os grupos controles aos suscetíveis ao estresse foram identificadas. Dentre todos os sítios CpG diferencialmente metilados, 340 (87.85%) estavam hipometilados no grupo suscetível ao estresse, enquanto 47 (12,14%) estavam hipermetilados (Figura A). Em contraste, considerando a comparação entre o grupo controle e o grupo resiliente, também no hipocampo, foram observados uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de metilação do DNA de 71 sítios CpG. Dentre todos os sítios CpG diferencialmente metilados, 42 (59.16%) estavam hipometilados no grupo resiliente ao estresse, enquanto 29 (40,84%) estavam hipermetilados (Figura A). Cinco alterações foram comuns a ambos os grupos, destas 2 foram hipometiladas. Ainda no hipocampo, comparando os sítios CPGs diferentemente metilados do DNA dos grupos Suscetíveis e Resilientes ao estresse, foram encontrados 113 diferenças estatísticas, das quais 88 (77.87%)

foram hipometiladas, enquanto 25 sítios (22.12%) CPGs foram hipermetilados (Figura A).



Em análises do Córtex pré-frontal uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de metilação do DNA de 93 sítios CpG comparando os grupos controles aos suscetíveis ao estresse foram identificadas. Dentre todos os sítios CpG diferencialmente metilados, 53 (56.98%) estavam hipermetilados no grupo suscetível ao estresse, enquanto 40 (43,01%) estavam hipometilados (Figura B). Em contraste, considerando a comparação entre o grupo controle e o grupo resiliente, também no córtex pré-frontal, foram observados uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de metilação do DNA de 27 sítios CpG. Dentre todos os sítios CpG diferencialmente metilados, 14 (51.85%) estavam hipermetilados no grupo suscetível ao estresse, enquanto 13 (48,14%) estavam hipometilados (Figura B). Trinta e duas alterações foram comuns a ambos os grupos, estando hiper ou hipometiladas. Por fim, no córtex Pré-Frontal comparando os sítios CPGs diferentemente metilados do DNA dos grupos Suscetíveis e Resilientes ao estresse, foram encontradas 112 diferenças estatísticas, das quais 58 (51.78%) foram hipometiladas, enquanto 54 sítios (48.21%) CPGs foram hipermetilados (Figura B).



Conclusão

Diante do conjunto de dados obtidos, observamos que o estresse crônico modula de maneira distinta os parâmetros epigenéticos de metilação do DNA, de acordo com a resposta individual e com a estrutura cerebral analisada. Nossos resultados indicam que, entre os indivíduos suscetíveis ao estresse, um número maior de genes apresenta alterações em seus mecanismos de regulação da tradução, especialmente no hipocampo, em comparação aos indivíduos resilientes e à estrutura do córtex pré-frontal. Além disso, a maioria das alterações identificadas corresponde à hipometilação do DNA, a qual pode resultar na ativação de vias de

transcrição possivelmente implicadas nas respostas fenotípicas observadas nos animais classificados como suscetíveis ao estresse. Ressaltamos que os resultados apresentados aqui são observações iniciais e que ainda serão ampliadas.

1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Depression and other common mental disorders: global health estimates. Geneva: WHO, 2023.
- NESTLER, E. J. et al. Epigenetic mechanisms of depression. *JAMA Psychiatry*, v. 73, n. 4, p. 341-348, 2016.
- PEÑA, C. J. et al. Early life stress alters transcriptomic patterning across reward circuitry in male and female mice. *Nature Communications*, v. 10, n. 1, p. 5098, 2019.
- SULLIVAN, P. F.; NEALE, M. C.; KENDLER, K. S. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *American Journal of Psychiatry*, v. 157, n. 10, p. 1552-1562, 2000.
- WILLNER, P. Reliability of the chronic mild stress model of depression: a user survey. *Neurobiology of Stress*, v. 6, p. 68-77, 2017.
- SILVA, J. P. et al. *Epigenetic biomarkers and major depressive disorder: insights from animal models*. *Neuroscience Letters*, v. 765, p. 136278, 2021.
- MARTINS, A. L. et al. *DNA methylation patterns in stress-induced depression*. *Frontiers in Psychiatry*, v. 13, p. 889542, 2022.
- Bibikova, M., Barnes, B., Tsan, C., Ho, V., Klotzle, B., Le, J. M., . . . Shen, R. (2011). High density DNA methylation array with single CpG site resolution. *Genomics*, 98(4), 288-295. doi: 10.1016/j.ygeno.2011.07.007