

A METILAÇÃO DO GENE *NR3C1* COMO POTENCIAL BIOMARCADOR DE TRANSTORNOS DE ANSIEDADE

João Victor Heringer Rosa, Amanda Schwanz Turra, Elisa Soares Fassarella, Amanda Sgrancio Olinda, Weverton Pereira de Medeiros, Suzanny Oliveira Mendes, Adriana Madeira Álvares da Silva

Universidade Federal do Espírito Santo, Avenida Marechal Campos, 1468, Maruípe - 29040-090 - Vitória -ES, Brasil, joao.vh.rosa@edu.ufes.br, amandasturra@gmail.com, elisa.fassarella@edu.ufes.br, mandasgrancio@gmail.com, wevertonmedeiros74@gmail.com, suzannymendes@gmail.com, adriana.biomol@gmail.com.

Resumo

A epigenética, o estudo das mudanças na expressão gênica sem que haja alterações na sequência de DNA, destaca a metilação como fundamental na resposta ao estresse e na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). Alterações na metilação do *NR3C1* estão associadas a distúrbios psiquiátricos, incluindo a ansiedade. Assim, este trabalho busca verificar a metilação do gene *NR3C1* como um potencial biomarcador para o transtorno de ansiedade. Foi realizada uma busca nas bases PubMed e Portal de Periódicos da CAPES usando termos específicos e conectores Booleanos, identificando 105 artigos. Após aplicar critérios de inclusão, como ano de publicação, idioma e acesso ao texto completo, foram selecionados 6 artigos. Os estudos indicam que a metilação do gene *NR3C1* está associada a diferentes situações de estresse, como pressão acadêmica, violência doméstica e adversidades na infância, relacionando-se com a manifestação de sintomas de ansiedade. A variabilidade na metilação associada a diferentes experiências de vida sugere que o gene pode ser utilizado para rastrear o impacto de fatores ambientais no desenvolvimento da ansiedade.

Palavras-chave: Epigenética. Metilação de DNA. Transtorno de Ansiedade.

Área do Conhecimento: Biologia Molecular.

Introdução

A epigenética é o estudo das mudanças da expressão gênica desencadeadas por alterações químicas e estruturais no DNA sem que haja alteração em sua sequência nucleotídica (Al Aboud; Tupper; Jialal, 2018). Essas alterações, as quais podem ser ou não transgeracionais, podem se manifestar de diversas maneiras, sendo a metilação um dos processos mais explorados na epigenética clássica. A adição de um grupo metil (-CH₃) no quinto carbono da citosina ocorre, usualmente, em ilhas CpG simétricas e está normalmente associada ao silenciamento gênico, impressão genômica e inativação do cromossomo X, podendo ser atrelado à algumas patologias, tais como câncer, doenças neurodegenerativas, distúrbios metabólicos e doenças cardiovasculares (Greenberg; Bourc'his, 2019).

O processo de metilação está relacionado a fatores internos ou externos, podendo ser desencadeado pela ação de agentes químicos ambientais, medicamentos e em ambientes de estresse, manifestando-se, muitas vezes, em desordens psiquiátricas, a exemplo da ansiedade (Moore; Persaude, 2020). A mudança na expressão gênica ocorre de forma adaptativa, alterando o equilíbrio fisiológico normativo, sobretudo do sistema neurológico, o qual apresenta enorme plasticidade (Persaud; Cates, 2023). Nesse sentido, a metilação tende estar associada às patologias psiquiátricas, alterando a expressão de genes relacionados às vias metabólicas e neurológicas afetadas, sendo um exemplo disso a hipermetilação da região promotora do gene *NR3C1* (em inglês, *Nuclear Receptor Subfamily 3 Group C Member 1*) em pacientes com ansiedade generalizada (Wang, *et al.*, 2017), distúrbio que tem prevalência em 310 milhões de pessoas da população global (Organização Mundial da Saúde, 2022).

O *NR3C1* codifica o receptor de glicocorticoides, podendo funcionar como regulador de outros fatores de transcrição. Este gene em questão está envolvido em respostas inflamatórias, proliferação

celular e diferenciação em tecidos-alvo, além da regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). Modificações neste gene estão associadas à desregulação do *feedback* negativo do eixo HPA, à resistência aos glicocorticóides, e produção anormal de hormônios relacionados ao estresse, tendo como consequência problemas na cognição e aumento da suscetibilidade de sintomas de ansiedade (Dadds, *et al.*, 2015), exemplificados por falta de apetite, suor, taquicardia e ganho ou perda de peso anormal.

Portanto, considerando a prevalência global do distúrbio de ansiedade, assim como o predomínio de condições de estresse no cotidiano moderno, faz-se necessário o estudo da relação entre tal desordem psiquiátrica e suas marcas epigenéticas, a fim de rastrear a evolução dessa patologia e de suas manifestações. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho é, por meio de uma revisão bibliográfica, investigar a metilação do gene *NR3C1* como potencial biomarcador da ansiedade.

Metodologia

Este estudo trata-se de uma revisão integrativa de literatura realizada nas bases de dados PubMed e Portal de Periódico da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). A partir do uso de palavras-chave relacionadas ao tema e de conectores Booleanos, foi elaborada a seguinte estratégia de busca: ("NR3C1" OR "Nuclear Receptor Subfamily 3 Group C Member 1") AND ("DNA Methylation") AND ("Anxiety" OR "Nervousness" OR "Anxiousness"), a qual resultou em um total de 105 artigos que apresentavam algum desses termos no título e/ou no corpo do texto, sendo 54 resultados do PubMed e 51 do Portal de Periódicos da CAPES.

Foi realizada a aplicação de filtros que se enquadraram nos critérios de inclusão dos artigos, sendo eles textos originais completos e gratuitos, publicados nos últimos 5 anos e nos idiomas português, inglês ou espanhol. Com isso, o número de resultados foi reduzido para 17 no PubMed e 21 no Portal da CAPES, totalizando 38 trabalhos. Após a eliminação de artigos duplicados e de revisões de literatura, apenas 20 estudos foram selecionados para as etapas seguintes, as quais consistiam nas leituras dos títulos e resumos e na exclusão daqueles trabalhos que não se alinhavam ao objetivo da pesquisa. No fim desse processo, restaram 9 artigos para serem lidos na íntegra e apenas aqueles que se adequavam à proposta do tema foram selecionados.

Resultados

Com base no método de seleção descrito anteriormente, 6 trabalhos foram escolhidos para compor a presente revisão de literatura. Nesse sentido, estes estudos foram organizados e expostos no quadro a seguir a fim de sumarizar seus resultados de maneira compreensiva.

Quadro 1 - Trabalhos científicos utilizados na presente revisão bibliográfica e seus conteúdos.

Artigo	Conteúdo
Schmidt <i>et al.</i> , 2019.	Avalia como a alteração fetal de <i>NR3C1</i> afeta a metilação do DNA na placenta e correlaciona-se com o comportamento semelhante à ansiedade na idade adulta, destacando o papel dos glicocorticóides na programação do estresse. Realizado em animais, um procedimento de cesariana foi desenvolvido para coletar tecido placentário enquanto minimiza os efeitos neurotóxicos nos filhotes, permitindo uma correlação direta entre a metilação do DNA e o comportamento posterior.
Dereix <i>et al.</i> , 2020.	Investiga as associações entre ansiedade e depressão durante a gravidez e a metilação diferencial do DNA do gene <i>NR3C1</i> , que codifica o receptor de glicocorticoide. Os sintomas de ansiedade e depressão dos participantes foram avaliados usando escalas validadas.

	<p>A metilação do DNA foi quantificada em quatro sítios específicos no gene <i>NR3C1</i> usando técnicas de PCR e pirosequenciamento.</p>
Wiegand <i>et al.</i> , 2021.	<p>Explora como a adversidade na infância interage com o transtorno de ansiedade social para afetar os padrões de atividade cerebral, focando particularmente no papel da metilação do DNA do gene <i>NR3C1</i> na mediação desse processo.</p> <p>Inclui participantes diagnosticados com transtorno de ansiedade social e controles, categorizados com base em suas pontuações na Escala de Ansiedade Social de Liebowitz e no “Childhood Trauma Questionnaire” para avaliar a adversidade na infância.</p>
Wadji <i>et al.</i> , 2023.	<p>Examina a metilação do exon 1F do <i>NR3C1</i> em resposta à violência doméstica e possível associação com a concentração de cortisol e saúde mental.</p> <p>Envolveu 40 díades mãe-filho, com 20 expostas à violência por parceiro íntimo e 20 não expostas, recrutadas por meio de agentes comunitários em Camarões.</p> <p>A análise de metilação do DNA foi realizada em amostras de saliva, utilizando sequenciamento bissulfito de sódio e sequenciamento Illumina.</p>
Fransen <i>et al.</i> , 2023.	<p>Avalia a metilação do DNA do exon 1F do gene do receptor de glicocorticoide (<i>NR3C1</i>) em adultos com zumbido subjetivo crônico e o possível efeito diferencial do pânico.</p> <p>Incluiu 22 pacientes com zumbido crônico e 31 controles saudáveis pareados por idade e sexo, avaliando o sofrimento relacionado ao zumbido e os sintomas de ansiedade por meio de questionários validados.</p> <p>O DNA foi isolado de amostras de sangue, e a conversão bissulfito seguida de análise de metilação quantitativa foi realizada em oito sítios CpG do gene <i>NR3C1</i>.</p>
Hua <i>et al.</i> , 2023.	<p>Estudo caso-controle aninhado com objetivo de investigar a associação entre a metilação do gene <i>NR3C1</i>, pressão acadêmica e sintomas de ansiedade em uma população de 150 adolescentes chineses, composta por 50 casos (aqueles com sintomas persistentes de ansiedade) e 100 controles (sem sintomas de ansiedade).</p> <p>Os dados foram coletados por meio de questionários auto-administrados e amostras de sangue para análise de cortisol e metilação do DNA.</p> <p>A análise de metilação do DNA envolveu conversão bissulfito e amplificação por PCR, seguida de quantificação usando a plataforma SEQUENOM MassARRAY.</p>

Fonte: Autores, 2024.

Discussão

Após a análise dos trabalhos selecionados, entende-se que as alterações na metilação do gene *NR3C1* podem desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento de sintomas de ansiedade, sendo moduladas por fatores externos, especialmente aqueles associados ao estresse.

Nesse contexto, o estudo de Hua *et al.* (2023) fornece uma base sólida ao identificar diferenças significativas na metilação do sítio NR3C1-16 CpG10 em indivíduos submetidos a diferentes níveis de pressão acadêmica. Esses dados sugerem que o estresse, particularmente associado à alta pressão acadêmica, pode induzir alterações epigenéticas no *NR3C1*, contribuindo para o desenvolvimento de sintomas de ansiedade. Da mesma forma, as observações de Wiegand *et al.* (2021) demonstraram como a metilação do *NR3C1*, em um sítio CpG específico (cg25708981), pode mediar a relação entre o Transtorno de Ansiedade Social (TAS) e a atividade cerebral, particularmente em áreas relacionadas ao processamento de emoções e estresse.

A metilação do *NR3C1* também foi associada a altos níveis de ansiedade em contextos diversos, como transtorno do pânico (Fransen *et al.*, 2023) e violência doméstica (Wadji *et al.*, 2023). Esses resultados corroboram a hipótese de que a metilação do *NR3C1* não apenas responde ao estresse, mas também pode servir como um indicador robusto do impacto de tais experiências ao longo da vida. Além disso, Dereix *et al.* (2020) relataram aumento na metilação do *NR3C1* em recém-nascidos de mães ansiosas, sugerindo que a metilação desse gene pode ser influenciada por fatores durante o período gestacional, estabelecendo uma predisposição precoce ao transtorno de ansiedade. Neste trabalho, especificamente, a exposição a altos níveis de ansiedade durante a gravidez foi associada a um aumento de 2,07% na metilação do CpG1 em comparação com os bebês nascidos de mães com níveis baixos a moderados de ansiedade.

Por fim, Schmidt *et al.* (2019) demonstraram, em modelos animais, que a deficiência do receptor de glicocorticoide, influenciada pela metilação do *NR3C1*, afeta o comportamento semelhante à ansiedade na vida adulta. Dessa maneira, a metilação do *NR3C1* atua como um elo crítico entre estressores ambientais e a vulnerabilidade ao transtorno de ansiedade, destacando sua potencial utilidade como biomarcador para avaliar o risco e a progressão dessa condição. A interação entre a metilação do *NR3C1* e outros fatores genéticos, como sugerido por Schmidt *et al.* (2019), indica que a metilação desse gene atua em um contexto de interações genéticas e ambientais que juntas moldam a predisposição ao transtorno de ansiedade.

Conclusão

Logo, a capacidade do *NR3C1* de refletir mudanças epigenéticas decorrentes de experiências precoces sublinha a importância de considerar tanto fatores genéticos quanto ambientais no rastreamento do transtorno de ansiedade, com vistas a acompanhar o desenvolvimento desse distúrbio e a propor tratamentos. A evidência de que esse gene pode refletir mudanças epigenéticas provocadas por experiências adversas precoces reforça a necessidade de integrar fatores genéticos e ambientais na compreensão e no tratamento da ansiedade.

Essa perspectiva oferece uma nova abordagem terapêutica, sugerindo que intervenções direcionadas para a modulação epigenética podem ser eficazes na reversão ou atenuação dos impactos negativos das experiências adversas, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias mais personalizadas e eficazes no manejo do transtorno de ansiedade.

Referências

AL ABOUD, Nora M.; TUPPER, Connor; JIALAL, Ishwarlal. Genetics, epigenetic mechanism. 2018.

DADDS, Mark R. *et al.* Individual differences in childhood behavior disorders associated with epigenetic modulation of the cortisol receptor gene. **Child Development**, v. 86, n. 5, p. 1311-1320, 2015.

DEREIX, Alexandra E. *et al.* Maternal anxiety and depression in pregnancy and DNA methylation of the *NR3C1* glucocorticoid receptor gene. **Epigenomics**, v. 13, n. 21, p. 1701-1709, 2021.

FRANSEN, Erik *et al.* Differential effect of panic on the DNA methylation of the glucocorticoid receptor gene exon 1F in chronic subjective tinnitus with distress. **Psychiatric Genetics**, v. 33, n. 4, p. 134-144, 2023.

GREENBERG, Maxim VC; BOURC'HIS, Deborah. The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 20, n. 10, p. 590-607, 2019.

HUA, Yilin *et al.* Association between academic pressure, *NR3C1* gene methylation, and anxiety symptoms among Chinese adolescents: a nested case-control study. **BMC psychiatry**, v. 23, n. 1, p. 376, 2023.

MOORE, Keith M.; PERSAUDE, T. V N. Embriologia Clínica. Rio de Janeiro: **Grupo GEN**, 2020. E-book. ISBN 9788595157811.

PERSAUD, Nikita S.; CATES, Hannah M. The epigenetics of anxiety pathophysiology: a DNA methylation and histone modification focused review. **eneuro**, v. 10, n. 4, 2023.

SCHMIDT, Michaela *et al.* Fetal glucocorticoid receptor (Nr3c1) deficiency alters the landscape of DNA methylation of murine placenta in a sex-dependent manner and is associated to anxiety-like behavior in adulthood. **Translational Psychiatry**, v. 9, n. 1, p. 23, 2019.

WADJI, Dany Laure *et al.* Methylation of the glucocorticoid receptor gene (NR3C1) in dyads mother-child exposed to intimate partner violence in Cameroon: Association with anxiety symptoms. **Plos one**, v. 18, n. 4, p. e0273602, 2023.

WANG, Wei *et al.* Increased methylation of glucocorticoid receptor gene promoter 1F in peripheral blood of patients with generalized anxiety disorder. **Journal of psychiatric research**, v. 91, p. 18-25, 2017.

WIEGAND, Ariane *et al.* Neural correlates of attentional control in social anxiety disorder: the impact of early-life adversity and DNA methylation. **Journal of psychiatry & neuroscience: JPN**, v. 46, n. 6, p. E663, 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World mental health report: Transforming mental health for all**. World Health Organization, 2022.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado do Espírito Santo (FAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), da Fundação Espírito-santense de Tecnologia (FEST) e a Secretaria de Estado da Segurança Pública e Defesa Social (SESP).