
***TP53 Arg72Pro* polymorphism and its relationship with major depressive disorder**

Polimorfismo *TP53 Arg72Pro* e sua relação com o transtorno depressivo maior

Received: 15-06-2024 | Accepted: 19-07-2024 | Published: 23-07-2024

Guilherme Oliveira Rodrigues

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5216-1045>

Universidade de Brasília, Brasil

E-mail: guilhermerodriguesolv@gmail.com

Larissa Sousa Silva Bonasser

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7812-8026>

Universidade de Brasília, Brasil

E-mail: laribonasser@gmail.com

Mauricio de Lima Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3716-7221>

Universidade de Brasília, Brasil

E-mail: mauriciols@live.com

Calliandra Maria de Souza Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9064-0735>

Universidade de Brasília, Brasil

E-mail: cdssilva@gmail.com

Caroline Ferreira Fratelli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0511-9452>

Universidade de Brasília, Brasil

E-mail: carolfratelli@gmail.com

Izabel Cristina Rodrigues da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6836-3583>

Universidade de Brasília, Brasil

E-mail: belbiomedica@gmail.com

ABSTRACT

This study investigates the association between the *TP53 Arg72Pro* polymorphism and major depressive disorder (MDD) using a case-control approach. The study sample comprised 97 individuals: 16 in the case group diagnosed with MDD and 81 in the control group. Genotyping was conducted using the PCR-RFLP technique, with the genotypic frequencies calculated by direct counting and statistical significance at 5% ($P < 0.05$). Results indicated that the *TP53 Arg72Pro* polymorphism's Pro allele was significantly more frequent in the MDD case group. These findings suggest that the Pro allele is associated with an increased risk of developing major depressive disorder.

Keywords: Depressive Disorder, Major; Polymorphism, Genetic; Tumor Suppressor Protein p53.

RESUMO

O transtorno depressivo maior (TDM) é uma condição complexa e heterogênea, influenciada por inúmeros fatores de origem psicológica, biológica, social e genética. O objetivo do presente estudo foi relacionar a presença do polimorfismo *TP53* Arg72Pro com o transtorno depressivo maior por meio de um estudo de caso-controle com 97 indivíduos, onde o grupo caso era composto por 16 indivíduos e o grupo controle era composto por 81 indivíduos. Foi realizada a genotipagem nos dois grupos por meio da técnica de PCR-RFLP. As frequências genóticas foram estimadas por contagem direta e o nível de significância assumido foi de 5% ($P < 0,05$). Observou-se que o alelo Pro do polimorfismo *TP53* Arg72Pro foi mais frequente no grupo caso, composto por indivíduos diagnosticados com transtorno depressivo maior. Dessa forma, concluiu-se que a presença do alelo Pro do polimorfismo *TP53* Arg72Pro está relacionada com a elevação do risco de desenvolvimento do TDM.

Palavras-chave: Transtorno Depressivo Maior; Polimorfismo Genético; Proteína Supressora de Tumor p53.

INTRODUÇÃO

As desordens de saúde mental são um importante problema de Saúde Pública. Segundo a *World Health Organization* (2022), em 2019 aproximadamente 970 milhões de pessoas sofriam com algum transtorno mental, e destas, 280 milhões conviviam com algum transtorno depressivo.

O transtorno depressivo maior (TDM) é uma condição complexa e heterogênea, influenciada por inúmeros fatores de origem psicológica, biológica, genética e social (Otte *et al.*, 2016). Esse distúrbio se caracteriza pela presença de humor deprimido e perda de interesse ou prazer durante a maior parte do dia, por pelo menos duas semanas consecutivas. Além disso, o DSM-V determina a necessidade da presença de pelo menos mais quatro sinais ou sintomas para que o TDM seja diagnosticado, entre eles, mudanças no apetite ou no peso, no sono e na atividade psicomotora, diminuição na energia, sentimento de culpa ou desvalia, dificuldade de pensar ou de manter a concentração, além de pensamentos de morte ou ideações suicidas. Somado a isso, os episódios precisam causar sofrimento significativo ou prejuízo considerável no comportamento social (American Psychiatric Association, 2014).

Devido à complexidade de sua etiologia, vários mecanismos relacionados ao desenvolvimento do TDM são estudados. Um estudo desenvolvido por Moisan e colaboradores (2021) teve como objetivo identificar biomarcadores moleculares de depressão relacionados à inflamação em pacientes obesos deprimidos e não deprimidos que não estivessem em tratamento medicamentoso para o transtorno. A expressão gênica foi avaliada antes e após o procedimento de cirurgia bariátrica em uma parcela dos pacientes, a fim de determinar qual o impacto da perda de peso na redução do quadro inflamatório e na remissão do TDM. O perfil de expressão de genes como *TP53* (*Tumor Protein 53*), *NR3C1* (*Glucocorticoid Receptor*) e *NFkB* (*Nuclear Factor kappa B*) demonstrou que esses marcadores estão associados ao desenvolvimento de TDM relacionado à inflamação, visto que houve uma normalização dessas vias após a cirurgia em pacientes deprimidos, indicando que informações sobre esses mecanismos podem contribuir para melhoria do tratamento e do diagnóstico (Moisan *et al.*, 2021).

O gene *TP53* está localizado no cromossomo 17p13.1 e é responsável pela codificação da proteína p53, composta por 393 aminoácidos e peso molecular de 53 kDa. Essa proteína é caracterizada como um fator de transcrição que atua como supressor tumoral e age em resposta a estresses celulares, com indução da parada do

ciclo celular, apoptose, senescência ou reparos no DNA (Ali *et al.*, 2021; Nakano *et al.*, 2022). Um dos polimorfismos genéticos estudados no gene *TP53* é um SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*, em português, Polimorfismo de Nucleotídeo Único), o qual acarreta a substituição de um único par de bases no éxon 4, resultando na troca do aminoácido arginina (Arg) por prolina (Pro) no códon 72. Esse SNP está localizado no domínio rico em prolina da proteína e vários estudos confirmaram que ele pode interferir na estabilidade da proteína. (Drokow *et al.*, 2020; Punja *et al.*, 2021; Słomiński *et al.*, 2021)

Considerando a importância do gene *TP53* na resposta a estresses celulares e seu possível envolvimento na regulação dessa resposta em transtornos do humor, o presente estudo teve como objetivo relacionar a presença do polimorfismo *TP53* Arg72Pro com o transtorno depressivo maior.

MÉTODOS

Foi realizado um estudo piloto de caso-controle, no qual o grupo caso era composto por 16 pacientes e o grupo controle era composto por 81 indivíduos, totalizando 97 indivíduos. Os critérios de inclusão para o grupo caso foram: ser diagnosticado com TDM, estar em tratamento no CAPS III de Samambaia Sul-DF, ser usuário de medicamentos psicotrópicos por pelo menos 3 meses e ser maior de 18 anos de idade. Os critérios de inclusão para o grupo controle foram: não ser acometido pelo TDM, ser residente do Distrito Federal e ser maior de 18 anos de idade. Foram excluídos do estudo participantes que possuíam idade inferior a 18 anos, que não desejaram participar da pesquisa ou quando os representantes legais não consentiram sua participação, pacientes com problemas neurológicos (Alzheimer, Parkinson, demência vascular, entre outros), pacientes diagnosticados com TDM e que não faziam o uso de medicamentos ou que faziam o uso por um período menor que 3 meses, pacientes que possuíam dependência de álcool e de outras drogas ilícitas e que eram analfabetos.

O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi obtido de todos os indivíduos antes da coleta de amostras. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética institucional da Universidade de Brasília com o número de parecer 3.691.717.

Para a análise genética, foram coletados aproximadamente 10 mL de sangue venoso em tubos com EDTA. O DNA foi extraído segundo as especificações do kit Nucleo Spin Blood Mini Kit (250) (Macherey-Nagel, catálogo 740951.250, lote 2007/002, Alemanha) e quantificado pelo espectrofotômetro NanoDrop 2000/2000c (Thermo Fischer Scientific). Para genotipagem, realizou-se a técnica PCR-RFLP.

A técnica de PCR qualitativa foi utilizada para a obtenção da genotipagem dos participantes. Os oligonucleotídeos utilizados foram: Forward - 5'-TCCCCCTTGCCGTCCTCAA -3' e Reverse - 5'-CGTGCAAGTCACAGACTT -3'. As condições determinadas para a termociclagem foram: 94°C por 2 minutos (desnaturação inicial), seguida por 35 ciclos de desnaturação a 94°C durante 30 segundos, seguidos de um ciclo de 60°C por 45 segundos para o anelamento dos oligonucleotídeos, e 72°C por 30 segundos para a extensão dos fragmentos. O equipamento utilizado foi o termociclador Techne modelo TC-512. Em cada reação foram utilizados 4,0 µL de DNA genômico na concentração de 2,5 ng/µL, 2,5 µL de tampão 10x (10 mM de Tris e 50 mM de KCl), 0,5 µL de MgCl₂ (Fermentas), 0,5 µL de dNTPs (2,5mM; LGC), 0,5 µL de Taq-Polimerase (Fermentas, 5U/µL), 1,5µL de cada oligonucleotídeo forward e reverse (10 µM), completando com água Milli-Q para um volume final de 25 µL por reação.

Em seguida, o produto da PCR, que é um fragmento de 279 pb, foi submetido à digestão enzimática com a enzima Bsh1236I (BstUI) (Thermo Fisher Scientific, Inc. USA). O alelo 2 (C) cria um novo sítio de restrição, e o fragmento de 279 pb é clivado em dois de 160 pb e 119 pb, enquanto o alelo 1 (G) não é clivado pela enzima. Para a montagem do sistema de digestão foram utilizados 10,0 µL da PCR, 3,0µL de tampão 10x NEB4 (Biolabs), 0,5 µL de enzima BstUI (10U/µL), completando com água Milli-Q para um volume final de 20 µL por reação. As frequências alélicas e genotípicas foram estimadas, utilizando-se o programa SPSS versão 20.0, por contagem direta, sendo essas expressas como porcentagem do número de alelos.

A aderência ao equilíbrio de Hardy-Weinberg para a frequência genotípica nos controles foi analisada pelo teste do qui-quadrado com um grau de liberdade. Para a análise das comparações das frequências genotípicas nos diferentes grupos foram aplicados os testes do qui-quadrado e o *Odds Ratio* (OR). Foram consideradas associações com probabilidades menores que 5% (P<0,05).

RESULTADOS

A distribuição genotípica diferiu estatisticamente entre os grupos. Enquanto no grupo caso a presença do genótipo Pro/Pro foi de 50% (N= 8), no grupo controle a frequência foi de apenas de 11,1% (N=9), o que demonstra que o genótipo em questão foi fator de risco para o TDM ($P < 0,01$; OR = 8,00). Além disso, a distribuição da frequência genotípica no grupo controle estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P = 0,504$). Os dados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição genotípica do polimorfismo *TP53* Arg72Pro nos participantes da pesquisa dos grupos TDM e Controle.

Genótipo	TDM	Controle	P-valor	OR (IC)
Arg/Arg	4 (25,0%)	32 (39,5%)		
Arg/Pro	4 (25,0%)	40 (49,4%)	0,001*	NA
Pro/Pro	8 (50,0%)	9 (11,1%)		
Pro/Pro	8 (50,0%)	9 (11,1%)	0,001*	8,00 (2,41-26,57)
Arg/Pro + Arg/Arg	8 (50,0%)	72 (88,9%)		

* $P < 0,05$; Teste do qui-quadrado. IC: intervalo de confiança; OR: *odds ratio*; TDM: transtorno depressivo maior; NA: não se aplica.

DISCUSSÃO

No presente estudo observou-se que 50% dos pacientes apresentaram o genótipo Pro/Pro, e que esta distribuição difere estatisticamente do grupo controle.

A proteína p53 ancestral possui participação nas respostas imunológicas, seja induzindo ou restringindo as mesmas. Essa proteína também participa do contexto molecular quando o ser humano é exposto a um agente estressante, e altera algumas funções celulares, ou até mesmo direciona as células danificadas à senescência ou apoptose (Hu *et al.*, 2021). Essa proteína pode sofrer alterações em sua cadeia de aminoácidos, e na presença do polimorfismo do éxon 4 no códon 72 (rs1042522), que ocasiona a substituição de uma citosina por uma guanina, a proteína sofre uma modificação de uma arginina (ancestral) para uma prolina (mutante) (Ali *et al.*, 2021).

Foi demonstrado que a variante p53Arg apresenta maior indução de apoptose em células defeituosas, diferentemente da variante p53Pro, a qual tende a induzir a parada do ciclo celular na fase G1, e, dessa forma, impede a diferenciação celular e seu crescimento (Słomiński *et al.*, 2021). Portanto, infere-se que a presença da variante p53Pro está relacionada com o prejuízo da função apoptótica de p53, o que pode estar associado com a maior ocorrência dessa variante nos casos de TDM, dado que há acúmulos de células defeituosas que deveriam ter sido eliminadas.

Outras pesquisas também demonstraram que o gene *TP53* pode estar associado à regulação da resposta ao estresse presente em transtornos de humor, como o TDM, mas em experimentação animal (Sullivan *et al.*, 2000). Neste sentido, Yeo e colaboradores (2021) realizaram análises em roedores *knock-out* para este gene, que foram expostos ao estresse moderado imprevisível crônico (*Chronic Unpredictable Mild Stress-CUMS*). Como resultado, os animais apresentaram aumento do comportamento depressivo e ansioso, e, além disso, a deficiência de p53 resultou em uma elevação da atividade apoptótica e nos níveis de glutamato e cálcio no córtex pré-frontal (YEO *et al.*, 2021).

Um estudo realizado por Dygalo e colaboradores (2012) demonstrou que o estresse está relacionado com a regulação negativa da neurogênese, com o aumento da atividade apoptótica cerebral e com a elevação do risco para desenvolvimento da depressão relacionada à proteína anti-apoptótica *protein B cell lymphoma like X, long variant* (Bcl-xL). Outra pesquisa demonstrou que essa proteína está associada a diferenças individuais na vulnerabilidade comportamental ao estresse (Dygalo *et al.*, 2012).

Além disto, Hara e colaboradores (2011) demonstraram que a resposta ao estresse crônico pode estar relacionada a sintomas de doenças ao utilizarem isoproterenol, um agonista β 2-adrenérgico, com o intuito de simular a ação da adrenalina em resposta a uma situação de estresse. Evidenciou-se que a presença do estressante levou à diminuição dos níveis p53 nuclear e ao acúmulo de danos no DNA. Devido à constante estimulação dos β 2-adrenoreceptores, tem-se a ativação das β 1-arrestinas (ARRB1) que promovem a degradação da p53 e suprimem os níveis dessa proteína (Gomes e Gaspar, 2018).

O estresse crônico e o TDM podem estar relacionados, uma vez que situações de estresse estimulam a produção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) no hipotálamo, o qual é estimulador de receptores α 1- adrenérgicos, o que leva ao aumento da atividade simpática e à diminuição da atividade parassimpática. Essa ação ocasiona

um aumento nos níveis de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) secretadas pela glândula suprarrenal, causa a estimulação constante do ciclo e também a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) por meio da produção do CRH, que por sua vez vai aumentar a liberação de glicocorticóides, sendo o mais importante deles o cortisol. Este mecanismo é conhecido como eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) (Arantes-Gonçalves e Coelho, 2006; Rădulescu *et al.*, 2021).

Ademais, o cortisol favorece uma maior atividade da via glutamatérgica, que promove o estresse oxidativo, ou seja, a prevalência de radicais livres sobre os mecanismos antioxidantes. Esses radicais, ao reagirem com os neurônios, podem causar apoptose e gerar danos e modificações estruturais no hipocampo, afetando a neurogênese e neuroplasticidade de células neurais. Com a diminuição da atividade apoptótica na variante p53Pro, esse mecanismo é prejudicado e pode levar a um maior acúmulo de células danificadas pelo glutamato (Arantes-Gonçalves e Coelho, 2006; Santos, 2019).

O fenômeno da neuroplasticidade é responsável pela formação dendrítica, remodelação sináptica, desenvolvimento axonal, extensão neurítica, sinaptogênese e neurogênese. Foi observado que altos níveis de cortisol plasmático foram capazes de suprimir a neuroplasticidade no hipocampo. Assim, os glicocorticóides são conhecidos por diminuir os ramos dendríticos apicais das células piramidais no hipocampo, exibindo efeitos neurotóxicos e um efeito inibidor na neurogênese adulta (Rădulescu *et al.*, 2021).

Assim, num contexto em que há uma prevalência da variante p53Pro, em conformidade com a literatura, esses indivíduos podem apresentar o mecanismo de apoptose por p53 prejudicado, o que ocasiona o acúmulo de danos nas estruturas do hipocampo devido ao estímulo do estresse crônico. Dessa forma, com a desregulação do eixo HPA, ocorre o aumento dos níveis de cortisol, o qual é neurotóxico e afeta a formação de novos neurônios, o que prejudica a neuroplasticidade dos indivíduos acometidos pelo transtorno.

No entanto, é digno de nota que o presente estudo se trata de um estudo piloto, e que a genotipagem em mais pessoas com TDM deverá ser realizada para uma melhor inferência.

CONCLUSÃO

Frente aos dados apresentados, o presente estudo aponta a possível relação entre o polimorfismo *TP53* Arg72Pro e a ocorrência do TDM, já que a variante Pro no códon 72 de p53 em homozigose pode representar maior risco para o desenvolvimento do transtorno.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, CNPQ, FAPDF e UnB/DPI.

REFERÊNCIAS

ALI, Hamida et al. PCR-RFLP genotyping analysis of TP53 Arg72Pro polymorphism and susceptibility to esophageal cancer in Pakistani population. **Gene Reports**, v. 25, p. 101406, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101406>

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION et al. **DSM-5: Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2014.

ARANTES-GONÇALVES, Filipe; COELHO, Rui. Depressão e tratamento. Apoptose, neuroplasticidade e antidepressivos. **Acta Médica Portuguesa**, v. 19, n. 1, p. 9-20, 2006. <https://doi.org/10.20344/amp.910>

DROKOW, Emmanuel Kwateng et al. The relationship between leukemia and TP53 gene codon Arg72Pro polymorphism: analysis in a multi-ethnic population. **Future Oncology**, v. 16, n. 14, p. 923-937, 2020. <https://doi.org/10.2217/fon-2019-0792>

DYGALO, Nikolay N. et al. Increased expression of the anti-apoptotic protein Bcl-xL in the brain is associated with resilience to stress-induced depression-like behavior. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 32, p. 767-776, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10571-011-9794-y>

GOMES, Joyce de Pontes; GASPAR, Danielle Macêdo. **A origem da depressão: Teorias sobre o desconhecido**. IV simpósio de pesquisa em ciências médicas, 2018.

HARA, Makoto R. et al. A stress response pathway regulates DNA damage through β 2-adrenoreceptors and β -arrestin-1. **Nature**, v. 477, n. 7364, p. 349-353, 2011. <https://doi.org/10.1038/nature10368>

HU, Jiahao et al. Targeting mutant p53 for cancer therapy: direct and indirect strategies. **Journal of hematology & oncology**, v. 14, p. 1-19, 2021. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01169-0>.

MOISAN, Marie-Pierre et al. Transcriptomic signaling pathways involved in a naturalistic model of inflammation-related depression and its remission. **Translational Psychiatry**, v. 11, n. 1, p. 203, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41398-021-01323-9>

NAKANO, Shiori et al. p53 Arg72Pro polymorphism, adiposity status, and cancer risk: Two case-cohorts within a Japanese prospective study. **Cancer Science**, v. 113, n. 12, p. 4385-4393, 2022. <https://doi.org/10.1111/cas.15572>

OTTE, Christian et al. Major depressive disorder. **Nature reviews Disease primers**, v. 2, n. 1, p. 1-20, 2016. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.65>

PUNJA, Harshitha K. et al. TP53 codon 72 polymorphism and type 2 diabetes: a case-control study in South Indian population. **Molecular Biology Reports**, v. 48, n. 6, p. 5093-5097, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06505-8>

RĂDULESCU, Ioana et al. Neuroplasticity and depression: Rewiring the brain's networks through pharmacological therapy. **Experimental and therapeutic medicine**, v. 22, n. 4, p. 1-8, 2021. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.10565>

SANTOS, Patrícia Ferreira da Costa Ramos dos. **Neuroinflamação e a depressão: novas abordagens terapêuticas no horizonte?**. 2019. <http://hdl.handle.net/10451/43547>

SŁOMIŃSKI, Bartosz et al. Associations of TP53 codon 72 polymorphism with complications and comorbidities in patients with type 1 diabetes. **Journal of Molecular Medicine**, v. 99, p. 675-683, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-02035-1>

SULLIVAN, Patrick F.; NEALE, Michael C.; KENDLER, Kenneth S. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. **American journal of psychiatry**, v. 157, n. 10, p. 1552-1562, 2000. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.10.1552>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World mental health report: Transforming mental health for all**. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/teams/mental-health-and-substance-use/world-mental-health-report>. Acesso em: 28 mai. 2023.

YEO, In Jun et al. p53 Knock Out Mice Enhances Anxiety-and Depression-Like Behaviors through an Increase of Glutamate, Calcium, and Cytokine-Mediated Cell Death Signals. 2021. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-929317/v1>