

Frecuencia del polimorfismo C825T en individuos con diagnóstico de síndrome depresivo mayor.

Pitta-Paredes, Maria Jose¹; Yvonne Gómez³, Lattig-Matiz, Maria Claudia²

¹Estudiante de pregrado en Microbiología, Universidad de los Andes

²Directora de Tesis, Profesora Asociada, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes

³Codirectora, profesora asociada, Departamento de Psicología, Universidad de los Andes

Resumen

Los desordenes depresivos son de interés a nivel mundial, estos trastornos caracterizados por la pérdida de interés en diferentes actividades, pueden ser influenciados tanto por factores ambientales como por factores genéticos. A nivel genético nos interesa el gen que codifica para la subunidad beta 3 de las proteínas G. La sustitución C/T (C825T) ha recibido especial atención ya que se encuentra asociado a cardiopatías, obesidad y depresión. El estudio caso-control realizado en población Colombiana sugiere que la presencia del alelo no es exclusiva de personas que padezcan depresión, sin embargo es importante tener en cuenta factores ambientales influyentes para determinar la influencia del polimorfismo C825T.

Palabras clave: GNB3, polimorfismo, neurotransmisor.

1. Introducción

La organización mundial de la salud (OMS) estima que cada año cerca de 877,000 personas mueren a causa de suicidio; la prevalencia de muerte por suicidio incluye desordenes mentales como depresión y esquizofrenia; la OMS sugiere que la tasa de personas con depresión debe incluir las diferencias étnicas entre las poblaciones (Kiyohara & Yoshimasu, 2009). El desorden depresivo mayor, se considera como una depresión grave que permanece constante durante un periodo de por lo menos dos semanas (Papakostas & Fava, 2008), esta depresión viene caracterizada por diferentes cambios en el estado anímico de la

persona como es la tristeza y pérdida de placer en su cotidianidad. Se ha demostrado que los factores genéticos influyen en el desarrollo del trastorno depresivo mayor; para esto se han realizado estudios de adopción y gemelos, estableciendo que la heredabilidad de este es baja en comparación con otros trastornos; el trastorno depresivo mayor se encuentra entre 31-42% lo cual es mucho menor que el trastorno bipolar o esquizofrenia cuya heredabilidad es del 70% (Kendler, 1983). Caracterizado por la regulación del estado de ánimo, el diagnóstico del trastorno depresivo mayor se puede realizar por medio de la identificación de 5 o más de los síntomas tales como: pérdida de interés en actividades que antes le resultaban placenteras, insomnio o hipersomnia, agitación o enlentecimiento psicomotor, sentimientos de inutilidad o culpa, problemas de concentración, pensamientos recurrentes de muerte y ganancia o pérdida significativa de peso, que persistan durante dos o más semanas consecutivas (Kiyohara & Yoshimasu, 2009).

Se han seleccionado diferentes genes candidatos que incrementan la susceptibilidad a padecer depresión, ya sea por su mecanismo de acción o por la patofisiología que producen (Lotrich & Pollock, 2005), estos interactúan de diferentes maneras como respuesta al tratamiento ya sea de forma aditiva o antagónica. Los genes involucrados en la transducción de señal intracelular y extracelular, son los mejores candidatos en estudios de asociación para trastornos afectivos y respuesta a antidepresivos (Hepler & Gilman, 1992).

Cambios a nivel de estructura proteica se han relacionado con la predisposición a padecer diferentes trastornos. Las proteínas G son una familia de proteínas que están involucradas en los sistemas de transducción de señal. Constan de tres subunidades α, β, γ que trabajan en conjunto para responder a la activación del receptor. La subunidad beta de la proteína g se compone de 4 genes, los b1, b2 y b3 se encuentran expresadas en todo el cuerpo y la b4 es abundante tanto en pulmón como cerebro (Simon et al., 1991). Esta subunidad está codificada por el gen GNB3 (proteína de unión a nucleótidos de guanina de la subunidad beta 3) la cual se encuentra presente en todas las células del cuerpo y su papel es la señalización intracelular corriente a bajo de la cascada de receptores activadores de monoaminas, que incluye el sistema dopaminérgico, serotoninérgico y noradrenérgico junto

con los genes que codifican para cada uno de estos (Crisafulli et al., 2011) los cuales se encuentran involucrados en la regulación emocional. Muchos de los receptores para los neurotransmisores y otros ligandos utilizan las proteínas G para la comunicación intracelular, estas son indispensables en las vías de transducción de señal ya que regulan respuestas celulares que al activarse, el receptor disocia la proteína en subunidades alfa y gamma con lo que activa efectores como canales iónicos (Bondy et al., 2002).

Siffert et al. identificó una variante genética del gen GNB3 que codifica para la subunidad beta-3 de la proteína G, implicado en obesidad, enfermedades coronarias y diabetes mellitus. El polimorfismo identificado es el C825T ubicado en el exón 10 del cromosoma 12p13 (rs5443), se asocia a hipertensión y obesidad (Kato et al., 2008). Este produce un incremento en la transducción de señal y el transporte iónico, influyendo de esta manera en la función de los neurotransmisores (Lee et al., 2004). A si mismo se ha encontrado en población Italiana que pacientes con genotipo TT tienen una mejor respuesta al tratamiento con antidepresivos como son la: Fluvoxamina y Paroxetina (Serretti, 2003).

La identificación de este polimorfismo se ha realizado en población Italiana, Asiática y Africana pero nunca en población Colombiana, lo cual es relevante ya que la identificación del genotipo a futuro podría facilitar la formulación del antidepresivo para el tratamiento.

2. Metodología

2.1 Participantes

El presente estudio fue aprobado por el comité de ética de la Universidad de los Andes. Se utilizaron 48 casos (Individuos con Trastorno Depresivo Mayor) pertenecientes a la Clínica La Inmaculada en la ciudad de Bogotá D.C. (12 hombres y 36 mujeres) entre los 18 y 60 años. Se utilizaron 27 controles (6 hombres y 21 mujeres) cuya puntuación en las pruebas IDER y STAI eran optimas (Agudelo Vélez, Gómez Maquet, & López, n.d.) ambos grupos, casos y controles

decidieron participar de manera voluntaria en el estudio, completando las pruebas de diagnóstico con la supervisión de psicólogos expertos en el área.

2.2 Cuestionarios

El primer diagnóstico realizado es la entrevista MINI (Mini entrevista Neuropsiquiátrica Internacional) utilizada frecuentemente para el diagnóstico de principales patologías psiquiátricas (Lobo et al.,1980) Igualmente, se utilizaron los siguientes cuestionarios a) Escala de sucesos vitales ESV, para identificar la percepción a diversos eventos b) el inventario de depresión IDER con el cual se realiza un análisis de la severidad de los síntomas depresivos, c) el STAI-A y B enfocado en la detección y análisis de la ansiedad y lo asociado a esta d) BDI-II con el cual se analizan pensamientos relacionados con la depresión e) Cuestionarios de Esquemas de Young en su versión corta, sobre autopercepción.

2.3 Extracción de ADN y Secuenciación

La extracción se realizó por medio del aislamiento de linfocitos de sangre total. Este material genético se precipitó en isopropanol con el kit DNA 2000 (CorpogenTM). Finalmente, el ADN obtenido se cuantificó mediante Nanodrop[®], guardando duplicados a 4°C con concentraciones de 20ng/ μ l.

El DNA extraído se sometió a 35 ciclos de amplificación utilizando los primers diseñados para la detección del polimorfismo 5´GTCAGGTGGGAGGCAGAG3´forward y 5´TCATGGAGTCCCAGACATTG reverse, con ciclos 90.0°C por 5:00, 95.0°C por 0:30 segundos, 58.0°C por 0:45, 72.0°C por 0:45, 72.0°C por 10:00 minutos. Luego de la PCR se digirieron los productos con la enzima de restricción BtgI, se separaron en un gel de agarosa y metaphore[®] al 2% visualizándolo el transiluminador UV.

El producto no digerido corresponde al genotipo TT con un tamaño de 268pb; con la digestión total del genotipo CC se obtuvieron bandas de

116 y 152 pb. Para la confirmación de los resultados se realizó secuenciación por el método de Sanger.

2.4 Análisis estadístico

Para el análisis de los datos obtenidos, se utilizó el software R i 286 v2.15.2. Tanto para los casos como para los controles se realizó Hardy Weinberg, por medio del uso del estadístico chi cuadrado obteniendo un valor $p=0.3174$ para los casos y un $p=0.3472$ para los controles. Se evaluaron las frecuencias alélicas y genotípicas tanto para casos como para controles y se analizaron los resultados obtenidos de la genotipificación por medio de los modelos: dominante y recesivo, obteniendo valores $P=0.31$, $OR=0.6(IC(95\%)=0.2-1.6)$ y $P=0.7$, $OR=1.4(IC(95\%)=0.3-5.4)$ respectivamente.

Resultados

Los resultados obtenidos para las frecuencias alélicas, se muestran el a Figura 1.

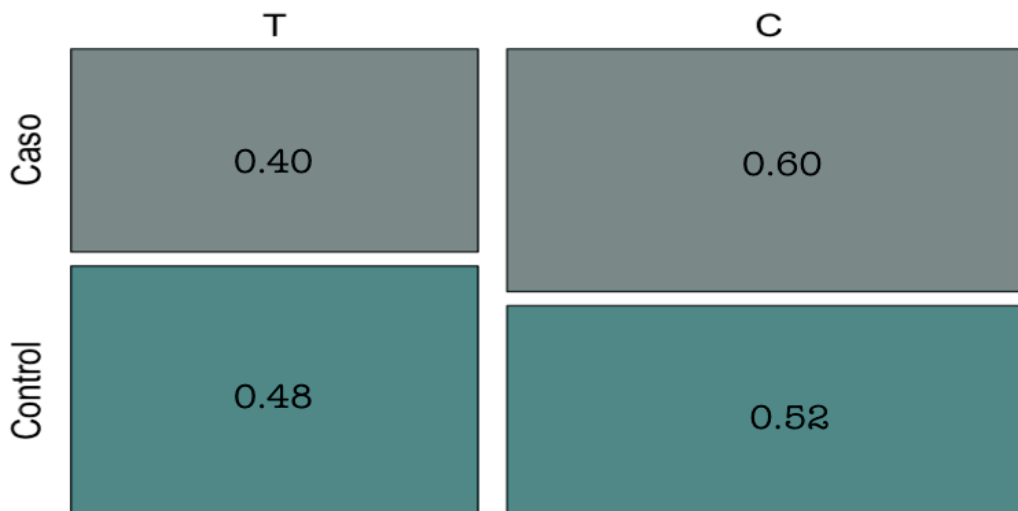


Fig. 1 Frecuencia de individuos depresivos (casos) y no depresivos (controles) que presentan el polimorfismo.

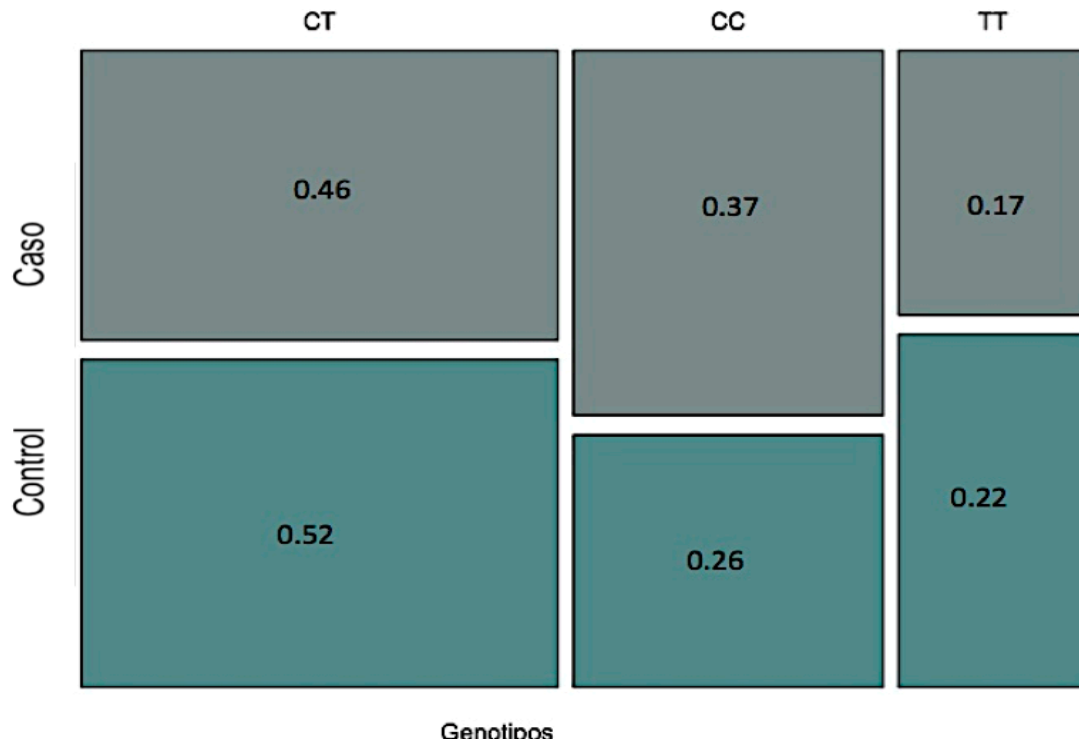


Fig2. Frecuencias genotípicas para casos y controles.

La frecuencia del alelo C es mayor en casos que en controles al igual que entre controles y casos. De igual manera se evaluó separadamente cada genotipo, identificando que existe una mayor frecuencia de homocigotos CC en personas que padecen depresión Figura 2.

Tanto en el modelo dominante como en el recesivo no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa, pero se puede identificar que en el modelo dominante hay una mayor frecuencia CT+TT en controles con lo cual el ser portador del alelo T no modifica el riesgo a padecer la enfermedad.

En cuanto a los modelos evaluados, el modelo recesivo fue el que más está acorde con los datos, aunque el intervalo de confianza obtenido no permite concluir con certeza que sea más probable o no padecer la enfermedad bajo el modelo.

Discusión

Luego de la identificación del C825T como factor influyente en pacientes depresivos, se han realizado varios meta análisis para intentar

establecer los genes relacionados con la depresión. López et al(2008), realizaron un meta-análisis cubriendo 393 polimorfismos en 102 genes, con lo cual demostró el papel fundamental que tienen las variantes de algunos genes incluyendo el GNB3.

De igual manera la diferencia en la distribución genotípica entre los pacientes y los controles para el alelo T, es diferente, decreciendo su incidencia en la población diagnosticada con depresión. Por otro lado el genotipo heterocigoto en ambos grupos abarca la mayor parte de la muestra, más de la mitad, lo cual es importante ya que se ha reportado que la expresión de la variante del GNB3 depende de la presencia de por lo menos una copia del alelo T, siendo esta muy cercana entre los controles y los pacientes. La presencia del alelo T del polimorfismo C825T produce un defecto en el *splicing*, perdiendo de esta manera 41 aminoácidos de la proteína, afectando la transducción de señal y la transferencia en la actividad iónica(Hu et al., 2015), por lo que encontrar en una mayor medida este alelo en pacientes diagnosticados con depresión, puede influir en su respuesta al tratamiento.

De los resultados obtenidos, es posible predecir que la variante del gen no podría estar asociada a depresión ya que en la mayoría de pacientes se no encontraba el genotipo TT, por otro lado, en la muestra control este genotipo era mayor, aunque con un tamaño de muestra mucho más amplio se podría esclarecer de forma más eficaz esta diferencia.

Por otro lado, se sabe que los genes que afectan la respuesta a tratamiento no son necesariamente los mismos que incrementan la vulnerabilidad a varios tipos de depresión(Lotrich & Pollock, 2005) pero ya que se está estudiando la subunidad beta 3 de las proteínas G, el gen que las codifica si se encuentra relacionado con la respuesta al tratamiento que en este estudio no se evaluó.

Conclusiones

En este estudio realizado en una muestra de población Colombiana, las diferencias no fueron significativas para los tres genotipos, tanto para los controles como para los pacientes con depresión, sugiriendo que la

presencia del alelo T puede tener o no un efecto, ya que se encontró en proporciones muy similares tanto en casos como en controles. El tamaño de muestra no fue suficiente para la identificación de una relación ya reportada por otros autores, sobre el polimorfismo en controles y personas diagnosticadas con depresión.

Ya que más del 60% de los pacientes con depresión no responden completamente a los tratamientos con antidepresivos y 30% no responden de ninguna manera. Los factores genéticos contribuyen en un 50% a la respuesta a antidepresivos (Crisafulli et al., 2011). La identificación de factores genéticos para la terapia con antidepresivos puede ayudar a predecir una respuesta al tratamiento y a la determinación eficaz del antidepresivo a utilizar (Hong, Chen, Yu, & Tsai, n.d.).

Es de resaltar que estas proteínas se encuentran en todas las células humanas (Hu et al., 2015) siendo un importante regulador de la transducción de señal, sobre todo de sinapsis neuronal, por lo tanto un centro influyente en la efectividad del antidepresivo. Los antecedentes sociales y las diferencias étnicas influyen de igual manera en la respuesta al tratamiento y la frecuencia de muchos polimorfismos varia con la ancestría, lo cual podría ser un factor influyente en los resultados encontrados en este estudio.

Agradecimientos

Gracias a los pacientes de la Clínica la Inmaculada, a la colaboración del equipo de psicología, dirigido por la doctora Yvonne Gómez y al equipo de trabajo del centro de investigaciones genéticas en enfermedades humanas (CIGEN) bajo la dirección de la doctora Maria Claudia Lattig, de la universidad de los Andes, Colombia.

Referencias

- Agudelo Vélez, D. M., Gómez Maquet, Y., & López, P. L. (n.d.). Psychometric Properties of The State-Trait Depression Inventory (IDER) with a Colombian general sample. *Avances En Psicología Latinoamericana*, 32(1), 71–84. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-47242014000100006&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Bondy, B., Baghai, T. C., Zill, P., Bottlender, R., Jaeger, M., Minov, C., ... Engel, R. R. (2002). Combined action of the ACE D- and the G-protein beta3 T-allele in major depression: a possible link to cardiovascular disease? *Molecular Psychiatry*, 7(10), 1120–6. doi:10.1038/sj.mp.4001149
- Crisafulli, C., Fabbri, C., Porcelli, S., Drago, A., Spina, E., De Ronchi, D., & Serretti, A. (2011). Pharmacogenetics of antidepressants. *Frontiers in Pharmacology*, 2, 6. doi:10.3389/fphar.2011.00006
- Hepler, J. R., & Gilman, A. G. (1992). G proteins. *Trends in Biochemical Sciences*, 17(10), 383–387. doi:10.1016/0968-0004(92)90005-T
- Hong, C.-J., Chen, T.-J., Yu, Y. W.-Y., & Tsai, S.-J. (n.d.). Response to fluoxetine and serotonin 1A receptor (C-1019G) polymorphism in Taiwan Chinese major depressive disorder. *The Pharmacogenomics Journal*, 6(1), 27–33. doi:10.1038/sj.tpj.6500340
- Hu, Q., Zhang, S.-Y., Liu, F., Zhang, X. J., Cui, G.-C., Yu, E.-Q., ... Zang, Y.-Y. (2015). Influence of GNB3 C825T polymorphism on the efficacy of antidepressants in the treatment of major depressive

disorder: A meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, 172, 103–109. doi:10.1016/j.jad.2014.09.039

Kato, M., Wakeno, M., Okugawa, G., Fukuda, T., Takekita, Y., Hosoi, Y., ... Serretti, A. (2008). Antidepressant response and intolerance to SSRI is not influenced by G-protein beta3 subunit gene C825T polymorphism in Japanese major depressive patients. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 32(4), 1041–4. doi:10.1016/j.pnpbp.2008.01.019

Kendler, K. S. (1983). Overview: a current perspective on twin studies of schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry*, 140(11), 1413–25. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6353948>

Kiyohara, C., & Yoshimasu, K. (2009). Molecular epidemiology of major depressive disorder. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 14(2), 71–87. doi:10.1007/s12199-008-0073-6

Lee, H.-J., Cha, J.-H., Ham, B.-J., Han, C.-S., Kim, Y.-K., Lee, S.-H., ... Lee, M.-S. (2004). Association between a G-protein beta 3 subunit gene polymorphism and the symptomatology and treatment responses of major depressive disorders. *The Pharmacogenomics Journal*, 4(1), 29–33. doi:10.1038/sj.tpj.6500217

Lotrich, F. E., & Pollock, B. G. (2005). Candidate genes for antidepressant response to selective serotonin reuptake inhibitors. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 1(1), 17–35. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2426818&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Simon, I.M., Strathmann, M.P. & Gautam, N. (1991). Diversity of G proteins in signal transduction. *Science* 252, 802-808. Retrieved from <http://www.sciencemag.org>

Papakostas, G. I., & Fava, M. (2008). Predictors, moderators, and mediators (correlates) of treatment outcome in major depressive disorder. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 10(4), 439–51. Retrieved from

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3181892&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Serretti, A. (2003). SSRIs antidepressant activity is influenced by G β 3 variants. *European Neuropsychopharmacology*, 13(2), 117–122.
doi:10.1016/S0924-977X(02)00154-2