

O PAPEL DE POLIMORFISMOS EM MICRORNAS NO DESENVOLVIMENTO CEREBRAL E SUSCEPTIBILIDADE GENÉTICA A TRANSTORNOS PSIQUIÁTRICOS

KAUANA FERREIRA ULGUIM¹; MARINA XAVIER CARPENA²; THAIS MARTINS-SILVA³; ANDRESSA MARQUES CARVALHO⁴; LUCIANA TOVO-RODRIGUES⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – kauanaulguim@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – marinacarpena_@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – thaismartins88@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – andressa_kissner@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – luciana.tovo@gmail.com

Transtornos psiquiátricos são de etiologia multifatorial, sendo influenciados por fatores ambientais e genéticos (OMS, 2018). Quanto ao componente genético, a literatura reporta os microRNAs (miRNAs) como possíveis biomarcadores relacionados à saúde mental (ISSLER *et al.*, 2015). Esses constituem uma grande família de pequenos RNAs endógenos não-codificantes com função na regulação da expressão gênica de seus genes-alvo (KOLSHUS *et al.* 2014). ZIATS; RENNERT (2014) analizaram a expressão de miRNAs ao longo do desenvolvimento cerebral em espécimes de cérebro *post-mortem* de crianças e adultos saudáveis e identificaram um conjunto de miRNAs que apresentam expressão diferencial em etapas do desenvolvimento, ressaltando a importância dessas moléculas na regulação de outros genes ao longo do desenvolvimento do sistema nervoso central.

Pesquisas buscando investigar o papel de Polimorfismos de Nucleotídeo Único (do inglês *Single Nucleotide Polymorphism*, SNPs) em miRNAs e sua associação com diversos transtornos psiquiátricos têm sido conduzidas (ISSLER *et al.* 2015). A plausibilidade para esse tipo de estudo diz respeito à possibilidade de variantes genéticas localizadas em sítios regulatórios e em regiões transtriccas de miRNAs poderem comprometer sua função, afetando sua transcrição, seu processamento e maturação, bem como impactar na sua interação com genes-alvo (MAFFIOLETTI *et al.* 2014). Levando isso em consideração, a identificação de SNPs em miRNAs expressos ao longo do desenvolvimento cerebral é importante, pois podem afetar a função desses miRNAs e, por consequência, podem estar envolvidos na patofisiológica de transtornos psiquiátricos (ZIATS; RENNERT, 2014).

Este trabalho tem por objetivo investigar o papel de polimorfismos genéticos em um conjunto de miRNAs descritos como importantes para o desenvolvimento cerebral na susceptibilidade genética a transtornos psiquiátricos empregando dados de grandes estudos genômicos.

2. METODOLOGIA

Ao total, foram identificados 437 SNPs em 58 genes de miRNA (ZIATS; RENNERT, 2014). Empregou-se duas metodologias para investigar a importância desses genes e SNPs em transtornos psiquiátricos. Primeiramente, esses SNPs foram pesquisados em bancos de dados contendo estatísticas summarizadas disponibilizadas publicamente por grandes Estudos de Associação Genômica Ampla (GWAS), para os seguintes transtornos: Ansiedade (ANS) (OTOWA *et al.* 2016), Transtorno Obsessivo-Compulsivo (TOC) (GENETICS *et al.* 2018; STEWART *et al.* 2013; MATTHEISEN *et al.* 2015), Transtorno de Humor Bipolar (THB) (SKLAR *et al.* 2011), Esquizofrenia (ESQ) (RIPKE *et al.* 2014), Transtorno do Espectro Autista (TEA) (<http://www.med.unc.edu/pgc/files/resultfiles/pgcasdeuro.gz>) e Transtorno de

Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) (DEMONTIS *et al.* 2014). Esses dados foram buscados no sítio de arquivos do Consórcio de Genômica Psiquiátrica (disponíveis em: <https://www.med.unc.edu/pgc>). Para cada SNP, foram recuperadas as seguintes informações: cromossomo, localização cromossômica, frequência alélica, medida de efeito e valor de significância estatística da associação (valor *p*). Em análises de associação genômica, o valor de referência para associação é $p < 5 \times 10^{-8}$, ponto de corte definido com base em correção para múltiplos testes. Valores sugestivos de associação são aqueles com a faixa de valores entre $p > 5 \times 10^{-8}$ e $p < 5 \times 10^{-6}$.

Como uma segunda etapa, foi conduzida uma análise de associação baseada em genes, empregando as estatísticas summarizadas dos transtornos TDAH, THB e TEA mencionadas acima. Para isso, utilizou-se do programa Vegas 2, desenhado para analisar genes com base nas estimativas de GWAS, fornecendo valor de significância estatística da associação (valor *p*) considerando a região gênica (MISHRA, 2017). Como parâmetro, foram incluídos SNPs a 50kb à montante e à jusante do gene para se estimar a associação. Como resultado, o Vegas 2 fornece um ranqueamento final de todos os genes do genoma com base na significância da associação (valor *p*). Para essa análise, o valor de referência para associação é $p < 1 \times 10^{-6}$. Logo, foram definidos *ranks* como a posição em que os miRNAs de interesse se encontravam de acordo com o seu valor de *p* na lista de genes para cada transtorno. Ou seja, o gene no primeiro *rank* seria o mais associado (menor valor de *p*), enquanto o gene no último *rank* seria o menos associado (maior valor de *p*). Para comparar a importância do grupo de genes de interesse entre TEA, TDAH e THB, realizou-se o teste de *Kruskal Wallis* utilizando os *ranks* dos genes obtidos nas análises no Vegas 2.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variantes genéticas identificadas em cada banco de dados foram classificadas de acordo com o seu valor de associação (TABELA 1). Pode-se observar que nenhuma das variantes observadas foram estatisticamente associadas a esses transtornos. Duas variantes apresentam sugestão de associação com ESQ, dentro do *MIR137*. A maioria das variantes apresentou valor *p* maior que 0.05. Apesar de a literatura demonstrar uma associação positiva entre o *MIR137* e ESQ (COUSIJN *et al.* 2014), nossos achados demonstram um valor de *p* sugestivo para a associação, o que corrobora com um estudo realizado por SHUAI *et al.* (2014). Quanto à análise baseada em genes, nenhum gene considerado foi estatisticamente associado a algum dos transtornos. Para TEA, o menor valor de *p* foi 0,084 (*MIR4515*). Para TDAH, os menores valores de *p* foram 3×10^{-5} (*MIR9-2*), 0,002 (*MIR212*), 0,006 (*MIR597*) e 0,016 (*MIR1266*). Para THB, o menor valor de *p* foram 0,013 (*MIR1249*), 0,017 (*MIR33B*), 0,033 (*MIR1266*) e 0,045 (*MIR597*).

A literatura reporta que miRNAs são importantes para esses desfechos (ISLLER *et al.* 2015), Dentre eles encontram-se o *MIR2113* com um valor de *p* $2,55 \times 10^{-8}$, o qual está diretamente ligado a função cognitiva geral (DAVIES *et al.* 2015). Outro miRNA, o *MIR135*, é relatado como associado a ansiedade, tanto em seus níveis baixos quanto em níveis mais altos (ISSLER *et al.* 2014) e a desregulação do *MIR34B* foi associada ao TDAH (GARCIA-MARTINEZ *et al.* 2016). Além disso, ao ser associado ao transtorno de ESQ, o *MIR597* foi encontrado na literatura com um valor de *p* $8,24 \times 10^{-4}$ se mostrando sugestivo para associação. (WILLIAMSON *et al.* 2015). Utilizando os valores de *ranks* de associação para os genes miRNAs de interesse, não foram encontradas diferenças significativas entre os diferentes transtornos (*p*=0,2417).

TABELA 1: Descrição dos achados de associação de marcadores genéticos individuais em empregando dados de estatísticas sumarizadas para GWAS de Transtornos Psiquiátricos

	ESQ	THB	TOC	TDAH	TEA	ANS
Valores de <i>p</i>	N: 150.064 N SNPs: 213	N:16.731 NSNPs:79	N: 9830 N SNPs: 214	N:55.374 N SNPs: 200	N: 7.192 N SNPs: 218	N: 17.310 N SNPs: 186
<5 x10 ⁻⁸	0	0	0	0	0	0
≥5x10 ⁻⁸ a <5x10 ⁻⁶	2	0	0	0	0	0
≥5x10 ⁻⁶ a <0,05	38	6	15	11	4	17
≥ 0,05	173	73	199	189	214	169
Valor máximo	0,969	0,993	0,999	0,980	1,000	0,999
Valor mínimo	6x10 ⁻⁸	0,0237	0,0022	6x10 ⁻⁴	0,0244	0,0021

*N: números de indivíduos que foram incluídos no estudo. N SNPs: Números de SNPs encontrados em cada banco para cada um dos Transtornos.

4. CONCLUSÕES

Nesse estudo, pode-se observar que o conjunto de miRNAs já reportados como importantes para o desenvolvimento cerebral não parecem estar relacionados com o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos. Com sugestão apenas para a ESQ. Ainda, a importância desse conjunto de genes não parece diferir entre TEA, TDAH e THB. Sendo necessários mais estudos acerca do tema, a fim de compreender a função e contribuição de miRNAs em transtornos psiquiátricos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COUSIJN, H., EISSING, M., FERNÁNDEZ, G. et al. No effect of schizophrenia risk genes MIR137, TCF4, and ZNF804A on macroscopic brain structure. **Schizophrenia research**, v. 159, n. 2-3, p. 329-332, 2014.

DAVIES, G., ARMSTRONG, N., BIS, J.C. et al. Genetic contributions to variation in general cognitive function: a meta-analysis of genome-wide association studies in the CHARGE consortium (N =53 949). **Mol Psychiatry** v. 20, p.183–192, 2015.

DEMONTIS, D., WALTERS, R. K., MARTIN, J. et al. Discovery of the first genome-wide significant risk loci for ADHD. **BioRxiv**, p. 145581, 2017.

GARCIA-MARTÍNEZ, I., SÁNCHEZ-MORA, C., PAGEROLS, M. et al. Preliminary evidence for association of genetic variants in pri-miR-34b/c and abnormal miR-34c expression with attention deficit and hyperactivity disorder. **Translational psychiatry**, v. 6, n. 8, p. e879, 2016.

GENETICS, International Obsessive Compulsive Disorder Foundation et al. Revealing the complex genetic architecture of obsessive-compulsive disorder using meta-analysis. **Molecular psychiatry**, v. 23, n. 5, p. 1181, 2018.

HROVATIN, KARIN; KUNEJ, TANJA. Classification of miRNA-related sequence variations. **Epigenomics**, v. 10, n. 4, p. 463-481, 2018.

ISSLER O, CHEN A. Determining the role of microRNAs in psychiatric disorders. **Nat Rev Neurosci**, v.16, n.4, p. 201-212, 2015.

ISSLER, O., HARAMATI, S., PAUL, E. D. et al. MicroRNA 135 is essential for chronic stress resiliency, antidepressant efficacy, and intact serotonergic activity. **Neuron** v. 83, p. 344–360 2014.

KOLSHUS, E., DALTON, V. S., RYAN, K. M. et al. When less is more—microRNAs and psychiatric disorders. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, v. 129, n. 4, p. 241-256, 2014.

MAFFIOLETTI E., TARDITO D., GENNARELLI M. et al. Micro spies from the brain to the periphery: new clues from studies on microRNAs in neuropsychiatric disorders. **Front Cell Neurosci**, v. 75, n. 8, 2014.

MATTHEISEN, M., SAMUELS, J. F., WANG, Y. et al. Genome-wide association study in obsessive-compulsive disorder: results from the OCGAS. **Molecular psychiatry**, v. 20, n. 3, p. 337, 2015.

MISHRA, A. Genética e Epidemiologia do Consórcio de Câncer Colorretal (GECCO), Registro de Família de Câncer Colorretal (CCFR), e MacGregor, S. Uma Nova Abordagem para Análise de Caminho dos Destaques de Dados GWAS Papel da Sinalização BMP e Células Musculares Diferenciação na Suscetibilidade ao Câncer Colorretal, **Twin Research and Human Genetics**, V.20, n. 1, p. 1-9, 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Determinantes Sociais e Riscos para a Saúde, Doenças Crônicas não transmissíveis e Saúde Mental. Brasilia: OMS. 2018.

OTOWA, T., HEK, K., LEE, M. et al. Meta-analysis of genome-wide association studies of anxiety disorders. **Molecular psychiatry**, v. 21, n. 10, p. 1391, 2016.

RIPKE, S., NEALE, B. M., CORVIN, A. et al. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. **Nature**, v. 511, n. 7510, p. 421, 2014.

SKLAR, P., RIPKE, S., SCOTT, L. J. et al. Large-scale genome-wide association analysis of bipolar disorder identifies a new susceptibility locus near ODZ4. **Nature genetics**, v. 43, n. 10, p. 977, 2011.

WANG, S., LI, W., ZHANG, H. et al. Association of microRNA137 gene polymorphisms with age at onset and positive symptoms of schizophrenia in a Han Chinese population. **The International Journal of Psychiatry in Medicine**, v. 47, n. 2, p. 153-168, 2014.

WILLIAMSON, V. S., MAMDANI, M., MCMICHAEL, G. O. et al. Expression quantitative trait loci (eQTLs) in microRNA genes are enriched for schizophrenia and bipolar disorder association signals. **Psychological medicine**, v. 45, n. 12, p. 2557-2569, 2015.

ZIATS, MARK N, RENNERT, OWEN M. Identification of differentially expressed microRNAs across the developing human brain. **Molecular psychiatry**, v. 19, n. 7, p. 848, 2014.