

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

KAUANA FERREIRA ULGUIM<sup>1</sup>; MARINA XAVIER CARPENA<sup>2</sup>; THAIS MARTINS-SILVA<sup>3</sup>; ANDRESSA MARQUES CARVALHO<sup>4</sup>; LUCIANA TOVO-RODRIGUES<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – kauanaulguim@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – marinacarpa\_@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – thaismartins88@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – andressa\_kissner@hotmail.com

<sup>5</sup>Universidade 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) analisaram 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 transtricas 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 sumarizadas 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 sumarizadas 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 SHUAL *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  $3 \times 10^{-5}$  (*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 $p$	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
$<5 \times 10^{-8}$	0	0	0	0	0	0
$\geq 5 \times 10^{-8}$ a $<5 \times 10^{-6}$	2	0	0	0	0	0
$\geq 5 \times 10^{-6}$ a $<0,05$	38	6	15	11	4	17
$\geq 0,05$	173	73	199	189	214	169
Valor máximo	0,969	0,993	0,999	0,980	1,000	0,999
Valor mínimo	$6 \times 10^{-8}$	0,0237	0,0022	$6 \times 10^{-4}$	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. Brasília: 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.