



FACULTAD DE CIENCIAS

PROGRAMA DE MAGISTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
MENCIÓN NEUROCIENCIA

**ESTUDIO DE POLIMORFISMOS EN LOS GENES DE DOPA
DESCARBOXILASA (*DDC*), RECEPTOR DE DOPAMINA D2 (*DRD2*) Y
RECEPTOR DE ENDOCANABINOIDE (*CNR1*) EN PACIENTES CON
DIAGNOSTICO DE ESQUIZOFRENIA REFRACTARIA EN TRATAMIENTO CON
CLOZAPINA.**

Tito Ernesto Castillo Varas

**Tesis para optar al grado de Magister en Ciencias
Mención Neurociencia**

Director de Tesis: Dr. Pablo Moya Vera
Co-Director de Tesis: Dra. María Leonor Bustamante

2019

Financiamiento

Esta tesis se realizó con el financiamiento de:

- ✓ Programa de Magister en Ciencias Biológicas mención Neurociencia, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso.
- ✓ Proyecto ICM-MINECOM NC130011, Núcleo Milenio NuMIND.
- ✓ Proyecto INCL-04, de la Oficina de Apoyo a la Investigación Clínica, del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.
- ✓ Proyecto PMI UVA1402.

Índice

Índice de tablas.....	vii
Abreviaturas.....	x
Resumen.....	xi
Abstract.....	xii
Introducción.....	1
Generalidades de la esquizofrenia.....	1
Tratamiento y resistencia.....	2
Causas posibles de resistencia al tratamiento con antipsicóticos: factores genéticos.....	4
Polimorfismos de nucleótido único y farmacogenómica en la esquizofrenia....	5
Farmacogenómica de la esquizofrenia desde la hipótesis dopaminérgica.....	6
Farmacogenómica de la esquizofrenia desde la hipótesis endocanabinoide...	8
Justificación del estudio.....	10
Hipótesis.....	11
Objetivos.....	12
Objetivo General.....	12
Objetivos Específicos.....	12
Metodología.....	13
Grupo Control.....	13
Pacientes.....	13
Métodos.....	14
Extracción de ADN.....	14
Escala BPRS.....	15
Cuantificación e integridad del ADN.....	16
Discriminación alélica a través de qPCR.....	16
Análisis estadístico.....	18
Resultados.....	20
Caracterización de las muestras.....	20
Estimación y comparación de frecuencias genotípicas y alélicas.....	21

Polimorfismos rs806368 del gen <i>CNR1</i>	21
Polimorfismos rs1049353 (-1359G/A) del gen <i>CNR1</i>	22
Polimorfismos rs1799978 (A-241G) del gen <i>DRD2</i>	24
Estimación y comparación de frecuencias haplotípicas.....	26
Discusión.....	27
Conclusiones.....	34
Referencias bibliográficas.....	35
Anexo 1: Frecuencias alélicas y genotípicas del total de pacientes y controles....	43
Anexo 2: Frecuencias alélicas y genotípicas de pacientes en remisión y resistentes al tratamiento con clozapina.....	48
Anexo 3: Estimación y comparación de frecuencias haplotípicas de pacientes con esquizofrenia refractaria y controles sanos.....	53
Anexo 4: Documento de aprobación del proyecto por el Comité Ético Científico del Servicio de Salud Valparaíso San Antonio.....	55

Índice de tablas

Tabla 1. Volúmenes de reactivos para solución de PCR.....	17
Tabla 2. Programa de temperatura para termociclador.....	17
Tabla 3. Frecuencias genotípicas en controles y pacientes para el SNP rs806368 del gen <i>CNR1</i>	21
Tabla 4. Frecuencias alélicas en pacientes en remisión y de pacientes resistentes a clozapina para el SNPs rs806368 gen <i>CNR1</i>	22
Tabla 5. Frecuencias alélicas de pacientes en remisión y de pacientes resistentes a clozapina para el SNPs rs1049353 gen <i>CNR1</i>	23
Tabla 6: Frecuencias genotípicas para el SNP rs1049353 del gen <i>CNR1</i> en pacientes en remisión y en resistentes, agrupadas en un grupo de portadores del alelo A (GA + AA) y en otro no portador de dicho alelo (GG).....	23
Tabla 7: Frecuencias alélicas de pacientes en remisión y de pacientes resistentes a clozapina para el SNPs rs1799978 gen <i>DRD2</i>	24
Tabla 8: Frecuencias genotípicas para el SNP 1799978 del gen <i>DRD2</i> en pacientes en remisión y en resistentes, agrupadas en un grupo de portadores del alelo G (AG + GG) y en otro no portador de dicho alelo (AA).....	25
Tabla 9. Distribución alélica y genotípica de distintas poblaciones para el polimorfismo rs806368 del gen <i>CNR1</i>	28
Tabla 10. Distribución alélica y genotípica de distintas poblaciones para el polimorfismo rs1049353 del gen <i>CNR1</i>	29
Tabla 11. Distribución alélica y genotípica de distintas poblaciones para el polimorfismo rs1799978 del gen <i>DRD2</i>	30

Anexo 1

Tabla 1: Frecuencias alélicas para los SNPs del gen <i>CNR1</i>	43
Tabla 2: Frecuencias alélicas para los SNPs del gen <i>DDC</i>	43
Tabla 3: Frecuencias alélicas para el SNP del gen <i>DRD2</i>	44
Tabla 4: Frecuencias genotípicas para los SNPs del gen <i>CNR1</i>	44
Tabla 5: Frecuencias genotípicas para los SNPs del gen <i>DDC</i>	45

Tabla 6: Frecuencias genotípicas para el SNPs del gen <i>DRD2</i>	45
Tabla 7: Frecuencias genotípicas para los SNPs del gen <i>CNR1</i> , agrupadas en un grupo de portadores del alelo de menor frecuencia y en otro no portador de dicho alelo.....	46
Tabla 8: Frecuencias genotípicas para los SNPs del gen <i>DDC</i> , agrupadas en un grupo de portadores del alelo de menor frecuencia y en otro no portador de dicho alelo.....	46
Tabla 9: Frecuencias genotípicas para el SNP del gen <i>DRD2</i> , agrupadas en un grupo de portadores del alelo de menor frecuencia y en otro no portador de dicho alelo.....	47

Anexo 2

Tabla 1: Frecuencias alélicas para los SNPs del gen <i>CNR1</i>	48
Tabla 2: Frecuencias alélicas para los SNPs del gen <i>DDC</i>	48
Tabla 3: Frecuencias alélicas para el SNP del gen <i>DRD2</i>	49
Tabla 4: Frecuencias genotípicas para los SNPs del gen <i>CNR1</i>	49
Tabla 5: Frecuencias genotípicas para los SNPs del gen <i>DDC</i>	50
Tabla 6: Frecuencias genotípicas para el SNPs del gen <i>DRD2</i>	50
Tabla 7: Frecuencias genotípicas para los SNPs del gen <i>CNR1</i> , agrupadas en un grupo de portadores del alelo de menor frecuencia y en otro no portador de dicho alelo.....	51
Tabla 8: Frecuencias genotípicas para los SNPs del gen <i>DDC</i> , agrupadas en un grupo de portadores del alelo de menor frecuencia y en otro no portador de dicho alelo.....	51
Tabla 9: Frecuencias genotípicas para el SNP del gen <i>DRD2</i> , agrupadas en un grupo de portadores del alelo de menor frecuencia y en otro no portador de dicho alelo.....	52

Anexo 3

Tabla 1: Frecuencias estimadas de haplotipos para los SNPs del gen <i>CNR1</i> en pacientes y controles.....	53
--	----

Tabla 2: Análisis de frecuencias de haplotipos del gen <i>CNR1</i> y su asociación con la enfermedad.....	53
Tabla 3: Frecuencias estimadas de haplotipos para los SNPs del gen <i>DDC</i> en pacientes y controles.....	54
Tabla 4: Análisis de frecuencias de haplotipos del gen <i>DDC</i> y su asociación con la enfermedad.....	54

Abreviaturas

3'UTR: Región 3' no traducida

5'UTR: Región 5' no traducida

ADN: Ácido desoxirribonucleico

BPRS: Brief psychiatric rating scale (Escala breve de evaluación psiquiátrica)

CB1: Receptor de endocannabinoides tipo 1

CNR1: Gen de receptor de endocannabinoide tipo 1

DA: Dopamina

DDC: Gen de enzima Dopa Descarboxilasa

DRD2: Gen de receptor de dopamina D2

EC: Endocannabinoide

HWE: Hardy-Weinberg equilibrium (Equilibrio de Hardy-Weinberg)

MAF: Minor allele frequency (Frecuencia del alelo menor)

SNP: Single nucleotide polymorphism (Polimorfismo de nucleótido único)

La esquizofrenia es una enfermedad psiquiátrica crónica e incapacitante, caracterizada por múltiples alteraciones de tipo psicóticas, afectivas, cognitivas y conductuales. Respecto a la fisiopatología, una de las teorías más estudiadas sugiere que existen alteraciones en el sistema dopaminérgico, las que contribuyen directamente a su sintomatología. Desde el punto de vista genético, es un fenotipo de herencia compleja, en donde se investiga un intrincado circuito de factores genéticos y ambientales que subyacen a su desarrollo. Diversos estudios han apuntado a polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) de genes que podrían modificar la actividad o expresión de proteínas en el sistema dopaminérgico, tanto de sus receptores como de enzimas que participan en la ruta de síntesis de dopamina. También se han estudiado SNPs en el sistema endocanabinoide, en genes que codifican para la expresión de sus receptores. En esta investigación se evaluaron las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNPs rs11238133, rs6951648, rs10499696 y rs921451 del gen de la enzima Dopa Descarboxilasa (*DDC*), y el SNP rs1799978 del gen del receptor postsináptico de dopamina D2 (*DRD2*). También se evaluaron en los SNPs rs1049353, rs806368, rs806379 y rs806380 del gen que codifica al receptor de endocannabinoides CB1 (*CNR1*). Se compararon frecuencias entre un grupo control sano y pacientes con esquizofrenia refractaria, y entre pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento con Clozapina. Entre pacientes y controles sanos se encontraron diferencias significativas al comparar sus frecuencias genotípicas para el SNP rs806368 en pacientes. Entre respondedores y no respondedores a Clozapina se encontraron asociaciones significativas al comparar sus distribuciones alélicas para los SNPs rs1799978 en respondedores, rs806368 y rs1049353 en no respondedores, y al comparar las distribuciones genotípicas para los SNPs rs1799978 en respondedores y rs1049353 en no respondedores. Para los otros polimorfismos no hay diferencias significativas entre los grupos, tampoco en los análisis de haplotipos. Estos resultados sugieren que la presencia de algunas variantes de estos polimorfismos podría estar relacionada ya sea con la susceptibilidad de padecer esquizofrenia y/o con la falta de respuesta (o una respuesta favorable) a Clozapina en la población Chilena.