



Fundación de Investigaciones Sociales A.C.

Alcohol-Infórmate

www.alcoholinformate.org.mx

Estudio preliminar de la expresión del mensaje genético del transportador de serotonina en células mononucleares de sangre periférica en pacientes con dependencia al alcohol con y sin depresión mayor comórbida

Enrique Becerril-Villanueva, Julia Moreno-Aguilar, Danelia Mendieta-Cabrera, Denia González-Cruz, Guillermina Natera-Rey, Lenin Pavón-Romero, María Eugenia Hernández-Gutiérrez

La Encuesta Nacional de Adicciones 2008 reportó que en México existen 39 millones de personas que consumen alcohol y 4.8 millones presentan dependencia. A nivel mundial varios estudios indican que los pacientes con dependencia al alcohol (40 a 50%) presentan comorbilidad con algún tipo de padecimiento psiquiátrico.

La función serotoninérgica es un mediador clave en los estados de ánimo, la impulsividad y las conductas adictivas, entre ellas el consumo de alcohol. Se ha reportado que el consumo excesivo de alcohol etílico disminuye los niveles de serotonina, aumenta la frecuencia de disparo de las neuronas serotoninérgicas en el núcleo del rafé y aumenta los niveles de serotonina en el núcleo accumbens. Las técnicas de biología molecular han permitido identificar factores de riesgo genético y se han seleccionado genes candidatos del sistema serotoninérgico, siendo uno de ellos el gen para el transportador de serotonina (5-HTT), el cual se ha demostrado que se encuentra asociado tanto a una mayor susceptibilidad para el establecimiento de la dependencia al alcohol como a la depresión mayor.

Los receptores del sistema serotoninérgico como el 5-HTT, el 5-HT1 y el 5-HT2 se expresan tanto en las células del Sistema Nervioso como en las células del sistema inmunológico, lo que sugiere una similitud funcional de ambos sistemas. Es por ello que las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) han sido utilizadas como un modelo de estudio en los trastornos de dependencia al alcohol y en los psiquiátricos.

El objetivo de este estudio fue evaluar los niveles de expresión del gen 5-HTT en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con dependencia al alcohol con y sin depresión mayor comórbida.

En el Servicio de Consulta Externa del Centro de Ayuda a Alcohólicos y Familiares (CAAF) y en el Centro de Alcohólicos y Drogadictos «Carrasco» se evaluaron 70 pacientes durante el periodo comprendido entre febrero y noviembre de 2008. De entre éstos se incluyeron 24 que cumplieron con los criterios diagnósticos para la dependencia al alcohol de acuerdo al DSM-IV por medio de la entrevista estructurada Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) en su versión en español. Cumplieron además con los siguientes criterios de inclusión: a) Que fueran pacientes de

nuevo ingreso, b) Mayores de 18 años, c) De sexo femenino o masculino, d) Libres de tratamiento farmacológico tres semanas antes de incluirlos al estudio y e) Firmar carta de consentimiento informado para participar en el estudio.

Se incluyeron para comparación voluntarios sanos (n=12) los cuales fueron seleccionados de la población abierta de la Ciudad de México en el periodo de febrero a noviembre de 2008 y que cumplieran con los siguientes criterios: a) No tener algún diagnóstico psiquiátrico, para lo cual se aplicó el MINI, b) Mayores de 18 años, c) Sexo femenino o masculino, d) Libres de tratamiento farmacológico tres semanas antes de incluirlos en el estudio y e) Firmar carta de consentimiento informado para participar en el estudio.

Todos los participantes asistieron de 8:00 hs. a 9:00 hs. Al laboratorio clínico del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente para la obtención de la muestra de sangre periférica de la cual se obtuvieron las PBMC. Se realizó la extracción del material genético (RNA) de las muestras de PBMC con el reactivo de Trizol®.

Aislamiento del RNA y RT-PCR

Las muestras de RNA fueron tratadas con DNasa 1 (Invitrogen Life Technologies; CA, USA) para eliminar la contaminación con DNA. La síntesis de cDNA (DNA copia) fue equivalente para todos los casos y se realizó a partir de 1 µg de RNA total en un volumen de reacción de 20 µL que contenía 5 µL de Buffer 5x para Retro-Transcriptasa (Promega; WI, USA), 15 mM de MgCl₂, 1.25 µl 10 mM de la mezcla Dntp (Promega; WI, USA), 200 U M-MLV transcriptasa reversa (Promega; WI, USA) y 1 µL de 10 mM OligodT (GE, UK). La mezcla de reacción se incubó durante 60 minutos a 42°C en un termociclador (Gradient Thermocycler; Eppendorf, Germany) y se aplicó un ciclo final de 90°C por cinco minutos.

La amplificación para el 5-HTT se realizó en un volumen final de reacción de 25 µL que contenía 2 µL de cDNA, 1 mM de desoxiribonucleótidos Mix dNTP (Promega; WI, USA), 0.75 mM de MgCl₂, 2.5 mM de oligonucleótidos y 1.25 unidades de GoTaq DNA Polimerasa (Promega; WI, USA) con una fase de desnaturalización de 94°C/1 minuto, una fase de alineación de 60°C/1 minuto y una fase de extensión de 72°C/1.30 minutos, durante 35 ciclos.

Los oligonucleótidos utilizados para el 5-HTT fueron los siguientes: sentido (5'-GAACTCCTGGAACACTGGCAAC-3') y el antisentido (5'-ATGACAAATCCCGAAACGAAGC-3') con un peso de 534 pares de bases (pb). En el caso del GAPDH las secuencias de oligonucleótidos utilizadas fueron: sentido (5'-TGGGGAAGGTGAAGG TCGGAGTC-3') y antisentido (5'-GACTTCAACAGCGACACCCACT C-3') con un peso de 874 pb. Los productos de amplificación se separaron en geles de agarosa al 2% y se tiñeron con bromuro de etidio. El análisis se realizó por densitometría computarizada (QuantityOne, Bio-Rad 2008).

Los voluntarios sanos presentaron una mayor expresión del gen (0.5012±0.1349) comparados con los pacientes con dependencia al alcohol (0.3150±0.1836), esta diferencia fue significativa (p<0.0036, Mann-Whitney). Los niveles de expresión del gen 5-HTT para los pacientes con dependencia al alcohol con depresión mayor comórbida fueron significativamente reducidos (no

detectables).

Con la técnica del PCR se determinó que la expresión del gen 5-HTT está disminuida en los dos grupos de pacientes comparados con los voluntarios sanos. Estos resultados coinciden con los estudios que han reportado que la expresión del gen 5-HTT en linfocitos de pacientes con trastorno depresivo mayor es menor comparada con los sujetos sanos. La no detección del mensaje genético del 5-HTT en los pacientes dependientes al alcohol con depresión mayor comórbida sugiere que la comorbilidad puede potenciar la reducción en la expresión del 5-HTT.

[Se anexa documento en pdf.](#)

FUENTE: *Salud Mental 2011*

<http://www.inprf-cd.org.mx/pdf/sm3402/sm3402139.pdf?PHPSESSID=7872186c97af56fa523481dea7db18ec>

