



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



INSTITUTO NACIONAL
DE PSIQUIATRÍA
RAMON DE LA FUENTE

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA

“RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ”

**“ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO Q27E DEL GEN ADBR2 Y EL
SÍNDROME METABÓLICO EN PACIENTES CON TRASTORNO BIPOLAR”**

DR. EDER PATIÑO RIVERA

ASESOR TEÓRICO: DR. CARLOS BERLANGA CISNEROS

ASESOR METODOLÓGICO: DRA. ADRIANA DÍAZ ANZALDÚA

MAYO 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	3
MARCO TEÓRICO	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
JUSTIFICACIÓN	16
HIPÓTESIS SEGÚN EL TIPO DE ESTUDIO	18
OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	19
MATERIAL Y MÉTODO	20
CONSIDERACIONES ÉTICAS	35
RESULTADOS	37
DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	41
CONCLUSIONES	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

AGRADECIMIENTOS

A mi abuelita Chelo y a mi abuelito Pepe por haberme dado en todo momento amor de primera, su vínculo permanece vivo en mi mente.

A mis papás por brindarme en todo momento una mano y el alma entera para avanzar, gracias por todo, los quiero mucho.

A la Dra. Beatriz Olgún por trabajar con verdad conmigo en mis circunstancias.

A la Dra. Adriana Díaz por haber sido mi guía en el proceso de realización de mi tesis.

A la Mtra. Silvia Aracely Tafoya Ramos por el apoyo en el análisis estadístico.

A todos mis maestros que han contribuido a mi educación.

A la Escuela Nacional Preparatoria plantel 9 Pedro de Alba, allí pase 3 de los mejores años de mi vida rodeado de arte, literatura, música, ciencia, amistad, sueños, ilusiones y compromiso social.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi alma mater, Por mi raza hablará el espíritu.

Al Instituto Nacional de Psiquiatría, espacio en el cual he aprendido el arte de la curación del alma.

A mi hermano, a mi tío Luis, a mi amiga Lupita, a mi amiga Martha, al Dr. Arturo Orozco, a mis amigos, a mi familia, a la Facultad de Medicina de la UNAM.

MARCO TEÓRICO

TRASTORNO BIPOLAR

El trastorno bipolar (TBP), como lo conocemos hoy en día, es un constructo reciente. Aproximadamente, hace 100 años Kraepelin describió un trastorno afectivo recurrente, pero el TBP no fue diferenciado del episodio depresivo mayor hasta el trabajo de Leonhardt 50 años después¹. El TBP actualmente es reconocido como un padecimiento psiquiátrico tratable asociado a una mortalidad importante y a un alto impacto social y económico. Todos los aspectos de su definición, límites, mecanismos y tratamientos están sujetos a debate. De hecho, no existe una medida objetiva que determine que un sujeto presente o no TBP².

Etiología

No hay una causa única para el TBP, se ha determinado que son muchos factores que actúan en conjunto y producen la enfermedad. La fisiopatología y sus mecanismos subyacentes son pocos entendidos. La evidencia de los estudios preclínicos hasta ahora publicados sugiere que pueda compartir algunos mecanismos biológicos con la epilepsia. Se ha planteado que existe un desequilibrio entre aminoácidos excitadores, fundamentalmente glutamato, y los inhibidores, principalmente el ácido gama aminobutírico, y la disfunción de las bombas de cationes como las bombas de sodio y calcio que explica la patogenia del TBP y otras patologías como la epilepsia³.

Estudios en personas adoptadas y gemelos han permitido documentar el carácter hereditario de los trastornos del estado del ánimo y proponer que los factores genéticos son necesarios pero no suficientes para el desarrollo de TBP; este fenómeno

es complejo y heterogéneo. En las últimas décadas, el foco de atención de los estudios genéticos se ha centrado en identificar los genes de susceptibilidad específicos para el TBP por medio de métodos moleculares. En la población de México faltan estudios que determinen qué genes aumentan la susceptibilidad para padecer TBP.

Epidemiología

La prevalencia del TBP tipo I en las muestras de población en general varía entre el 0.4% y el 1.6%; del TBP tipo II es aproximadamente de 0.5%⁴. La prevalencia del TBP tipo I en la población mexicana es de 1.3% y del TBP tipo II del 2%⁵. Los familiares biológicos de primer grado de las personas con TBP tipo I presentan una frecuencia mayor de TBP tipo I (4-24%), TBP tipo II (1-5%) y trastorno depresivo mayor (4-24%), respecto a la población general. Además, algunos estudios han indicado que los familiares biológicos de primer grado de los sujetos con TBP tipo II presentan con mayor frecuencia el mismo trastorno, TBP tipo I y trastorno depresivo mayor en comparación con la población general.

Características de la enfermedad

La característica esencial del TBP tipo I es un curso clínico con uno o más episodios maníacos o mixtos. Generalmente los sujetos también presentan uno o más episodios depresivos mayores. Por otra parte, la característica esencial del TBP tipo II es un curso clínico con uno o más episodios depresivos mayores acompañados por al menos un episodio hipomaniaco.

Comorbilidad

Por otra parte, la comorbilidad con trastornos psiquiátricos en los pacientes con TBP se da principalmente con el abuso de sustancias, trastorno de angustia y trastorno

obsesivo compulsivo en un porcentaje de 61%, 21% y 21% respectivamente⁶, aunque en otros estudios se ha estimado que la comorbilidad con trastornos de ansiedad, consumo de sustancias y trastornos de alimentación es de 42%, 42% y 9.5% respectivamente⁷.

Respecto a la comorbilidad médica se ha encontrado un riesgo aumentado de presentar obesidad, síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2, esto ejerce un efecto dañino sobre el curso del TBP⁸.

Tratamientos

Actualmente no existe cura para el TBP, pero puede ser controlado. El objetivo del tratamiento consiste en un control eficaz del curso de la enfermedad a largo plazo, lo cual puede suponer el tratamiento de los síntomas emergentes. Para lograrlo se emplean técnicas farmacológicas y psicológicas. El tratamiento farmacológico se basa en el uso de estabilizadores del estado de ánimo y de las técnicas psicológicas la única que ha demostrado ser eficaz es la psicoeducación. Se calcula que la respuesta a los fármacos puede estar condicionada hasta en un 85% por factores genéticos, por lo que ya existen en el mercado tests que recogen la información farmacogenética del paciente para que el médico pueda valorar qué tratamiento va a funcionar mejor en el paciente con TBP, en función de sus características genéticas.

Los estabilizantes del estado de ánimo sirven para hacer que el estado de ánimo permanezca estable y para prevenir o mitigar episodios de manía o depresivos. Entre los medicamentos de este tipo que han demostrado su eficacia está el litio que viene usándose desde hace mucho tiempo.

Los anticonvulsivantes son unos fármacos que originalmente se usaban con enfermos de epilepsia, actualmente se sabe de su eficacia en el tratamiento de los trastornos del humor. Entre los anticonvulsivantes más efectivos para la estabilización del humor figuran el ácido valproico y la carbamazepina.

Dentro de los antipsicóticos cabe incluir dos tipos: los típicos y los atípicos, dentro de los primeros destacan al haloperidol, clorpromazina, perfenazina, trifluoperazina; dentro de los segundos destacan olanzapina, quetiapina, risperidona, clozapina, ziprasidona, aripiprazol. Cabe destacar que todos los antipsicóticos atípicos están aprobados por la FDA para el tratamiento de estados agudos de manía.

Los antidepresivos, como su propio nombre indica, son medicamentos que se usan para combatir la depresión o estados depresivos más o menos profundos. Los más usados para tratar episodios depresivos del TBP son los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina y bupropión⁹.

SINDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico (SM), descrito en 1988 por Reaven, es definido como la coexistencia de factores de riesgo vinculados con insulino-resistencia.

La asociación de factores de riesgo cardiovascular se ha descrito desde hace muchos años. En 1923 Kylin describió la asociación de hipertensión arterial, hiperglucemia y gota. En 1936 Himsworth propuso la existencia de dos tipos de diabetes, la sensible y la insensible a la insulina. En 1956 Vague describió un tipo de obesidad androide asociada a hiperuricemia y riesgo cardiovascular. Estudios epidemiológicos, como el realizado por Framingham¹⁰, han demostrado que los factores de riesgo cardiovascular en la mayoría de las ocasiones se encuentran asociados.

En 1988, Reaven¹¹ describió a la agrupación de intolerancia a la glucosa, hipertensión, hipertrigliceridemia y disminución del colesterol HDL con el nombre de síndrome X destacando su asociación con la morbilidad y mortalidad cardiovascular. Recientemente se han agregado otros componentes como microalbuminuria, alteraciones procoagulantes, entre otras. El síndrome ha recibido diferentes nombres:

Síndrome de resistencia a la insulina, síndrome plurimetabólico, cuarteto de la muerte, síndrome dismetabólico cardiovascular y más recientemente, propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS) de SM¹².

Fisiopatología

Tradicionalmente, se ha considerado como hipótesis fisiopatológica subyacente al SM la resistencia a la insulina (RI), que se define como un defecto en la acción de la insulina que provoca aumento de la insulina basal para mantener la glucemia en un rango normal.

El principal contribuyente al desarrollo de RI es el exceso de ácidos grasos libres circulantes, que se derivan bien de las reservas de triglicéridos del tejido adiposo o bien de la lipólisis de lipoproteínas ricas en triglicéridos en los tejidos.

Al desarrollarse la RI, aumenta la liberación de ácidos grasos libres (AGL) en el tejido adiposo que, a su vez, inhiben los efectos antilipolíticos en la insulina.

Por otro lado, los AGL suponen un exceso de sustrato para los tejidos sensibles a la insulina y provocan alteraciones del sistema de señales que regulan el metabolismo de la glucosa. Los AGL aumentan la producción hepática de glucosa y disminuyen en los tejidos periféricos la inhibición de la producción de glucosa mediada por insulina.

Hay una estrecha correlación de la obesidad abdominal y los factores de riesgo que definen el SM, especialmente la hipertrigliceridemia¹³, así como entre la obesidad y la RI.

Algunos autores consideran que el almacenamiento disfuncional de energía del obeso es el punto clave para el desarrollo del SM. Según esta teoría, la RI es consecuencia de alteraciones en el procesado y almacenamiento de ácidos grasos y triglicéridos (TG) (moléculas básicas de reserva energética).

La tendencia fisiológica es el almacén de TG en adipocitos pequeños periféricos, pero cuando la capacidad de estas células se sobrepasa, se acumulan en el músculo y causan RI a la insulina de dichos tejidos¹⁴. También se ha comprobado que el depósito patológico puede realizarse en adipocitos periféricos anormalmente grandes. El efecto del tamaño del adipocito en el riesgo del desarrollo de SM parece ser independiente y aditivo al efecto de la insulinoresistencia¹⁵.

Epidemiología

La prevalencia del SM varía según factores como género, edad, etnia, pero se ubica entre 15% a 40%, siendo mayor en la población de origen hispano. Tomando en cuenta las limitaciones en la definición del síndrome, existe información que ilustra la dimensión del problema. En el tercer Estudio NHANES de los EUA, el cual es una encuesta de una muestra probabilística nacional que se realizó entre 1988 y 1994 se encontró una prevalencia general de 24% del SM, la cual aumentó a > 30% en personas de más de 50 años de edad y a > 40% a los 60 años. La mayor prevalencia fue en el grupo México-americano (32%) y sus mujeres tuvieron 26% mayor prevalencia que los hombres¹⁶.

En la Encuesta Nacional de Salud 2000 se identificó una prevalencia de obesidad del 24%, ponderada para edad y género, en población mexicana mayor de 20 años¹⁷. En la misma encuesta, la prevalencia de diabetes mellitus 2 fue de 11% y la de hipertensión arterial de 30%. Estos datos representaron un incremento con lo reportado por la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas en 1993: 7% con diabetes mellitus 2, 27% con hipertensión arterial, mientras que sobrepeso y obesidad fue de 61% y 25% en hombres, 56% y 15% en mujeres, respectivamente. Un análisis reciente del Estudio de Diabetes de la Ciudad de México encontró que 16% de mujeres y 14.2% de hombres desarrollaron el SM en 6 años de seguimiento, y de éstos, 46% de mujeres y 44% de hombres desarrollaron diabetes mellitus 2. En este análisis, la elevación de la proteína C reactiva predijo el desarrollo de SM en mujeres, pero no así en hombres. La incidencia de diabetes mellitus 2 (aproximadamente 1% anual) de este estudio es alarmante. La cohorte de este estudio es de un estrato socioeconómico bajo, por lo que su generalización al resto de la población es cuestionable, pero demanda una valoración pronta¹⁸. Aunque no existe una estimación de la prevalencia del SM en

población mexicana, el aumento en el sobrepeso/obesidad en época reciente, probablemente se acompaña de un aumento de tal síndrome, lo cual coincide con el aumento en diabetes mellitus 2¹⁹.

Criterios diagnósticos

Este síndrome se caracteriza por la presencia de, como mínimo, tres de cinco de los factores de riesgo siguientes: Tensión arterial: \geq a 130/85mmHg, triglicéridos plasmáticos $>$ 150mg/dL, HDL- colesterol $<$ 40mg/dL para hombres y $<$ 50mg/dL para mujeres, obesidad central $>$ 102 cm para hombres y $>$ 88cm para mujeres, glucosa en ayunas \geq 110mg/dL, según el tercer Estudio NHANES²⁰.

Tratamientos

El tratamiento del SM se basa también en las medidas generales de dieta y actividad física. No obstante, más de la mitad de los pacientes con este síndrome necesita, además, tratamiento farmacológico, ya que la reducción ponderal y el aumento de la actividad física no consiguen el control conveniente de los factores de riesgo cardiovascular. En el tratamiento antihipertensivo, tanto los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina como los antagonistas de los receptores de la angiotensina II mejoran la resistencia insulínica y previenen el deterioro vascular y renal. El tratamiento antidiabético con metformina, glitazonas y acarbosa, cuando esté indicado, induce mejoría, tanto del perfil glucémico como de la resistencia insulínica. Son vías prometedoras abiertas a la investigación en el tratamiento del SM tanto los receptores activados de los proliferadores de los peroxisomas, como los inhibidores de los receptores endocannabinoides²¹.

Prevención

La prevención del SM debe basarse esencialmente en la adopción de medidas generales destinadas a controlar el peso, por medio de la dieta adecuada, con una composición equilibrada de hidratos de carbono complejos, proteínas, grasas, fibra y micronutrientes. La dieta mediterránea, rica en verduras y frutas, hidratos de carbono complejos, pescados, aceite de oliva y antioxidantes muestra unas características apropiadas para la prevención del SM. Se debe recomendar una actividad física, acorde con la edad, el sexo y demás características de cada caso. Todas estas medidas deben establecerse desde la infancia y la adolescencia, dado el incremento importante de la prevalencia de la obesidad infantil y juvenil.

RELACIÓN ENTRE TRASTORNO BIPOLAR, SÍNDROME METABÓLICO, OBESIDAD Y EL RECEPTOR ADBR2

El índice de pacientes con problemas cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión, dislipidemia, algunos tipos de cáncer y SM podría aumentar en nuestro país de no controlarse uno de los principales factores de riesgo: la obesidad y el sobrepeso, los cuales afectan a 66.7% y 71.9% de hombres y mujeres, respectivamente, cifras que colocan a México en el segundo lugar mundial en prevalencia. La obesidad puede contribuir a la severidad del TBP a través de múltiples factores, incluyendo su impacto negativo en el funcionamiento físico y el bienestar en general y puede influir en la aparición de apnea del sueño, alteraciones de éste último, cambios en el ciclo circadiano y en el desarrollo de SM²². La obesidad es una enfermedad compleja y heterogénea con un fuerte componente genético, cuya expresión está influida por factores ambientales, sociales, culturales y económicos, entre otros. Múltiples estudios se han hecho con la finalidad de identificar variaciones genéticas que predispongan a la obesidad. Recientemente se encontró un “haplotipo” (conjunto de variables genéticas de polimorfismos cercanos que se heredan juntas) en el gen que codifica para el receptor adrenérgico beta 2 (ADBR2), el cual podría incrementar hasta nueve veces la propensión a desarrollar obesidad en población mexicana. En un estudio se observó la implicación del gen ADBR2, en particular de sus polimorfismos G16R y Q27E en el SM²³.

El gen que codifica al receptor beta 2 se encuentra en una región muy cercana al sitio de codificación del receptor adrenérgico alfa 1. Los diferentes polimorfismos, mutaciones puntuales y/o regulaciones genéticas del gen ADBR2 se encuentran asociados a la aparición del asma, obesidad y diabetes mellitus tipo 2. La proteína para

la cual codifica el gen ADRB2 es un miembro de la superfamilia de receptores acoplados a proteína G. Este receptor está directamente asociado con uno de sus últimos efectos, que es la clase C de los canales de calcio tipo L. Este complejo canal-receptor también contiene una proteína G, una adenilato ciclasa, una cinasa dependiente de AMPc, y una fosfatasa de contrapeso PP2A²⁴.

Se ha demostrado que las personas portadoras del polimorfismo Q27E (Glutamina27Glutamato ó Gln27Glu) localizado en el cromosoma 5, Gen ADRB2, Locus 5q31) y que consumen además dietas muy ricas en carbohidratos tienen un riesgo 2.5 veces mayor de desarrollar obesidad y enfermedades cardiovasculares (Figura 1). Por otro lado las personas portadoras de este polimorfismo tienen menos capacidad para utilizar los depósitos de grasa como fuente de energía durante el ejercicio²⁵.



Figura 1. Gen ADRB2: Cromosoma: 5; Localización: 5q31-q32

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SM es una de las principales comorbilidades médicas del TBP. Se ha observado que la población mexicana tiene una alta prevalencia en obesidad, que a su vez se relaciona con dislipidemia, resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2, aumento de la presión arterial y obesidad central, los cuales son factores de riesgo para padecer SM. El SM tiene un fuerte componente genético, sin embargo en México hacen falta estudios que identifiquen variaciones genéticas relacionadas con el este síndrome y con TBP. Recientemente se han llevado a cabo estudios acerca del gen ADBR2, principalmente del polimorfismo Q27E y su asociación con la obesidad. Se ha reportado que este gen podría incrementar hasta nueve veces la propensión a desarrollar obesidad en la población mexicana^{26, 27}. Sin embargo, hasta el momento no se han identificado en la literatura estudios de polimorfismos de este gen en población mexicana con TBP ni se ha explorado su relación con el SM a nivel genético. Por lo tanto, es importante llevar a cabo estudios de asociación en población mexicana, sobre todo en polimorfismos del gen ADBR2, primordialmente el Q27E y su relación con el SM, ya que esta información hasta el momento es desconocida en nuestro país.

JUSTIFICACIÓN

Algunas variantes del gen ADBR2 se han asociado con la presencia del SM, principalmente el polimorfismo Q27E. Sin embargo, se ha demostrado que en general puede haber heterogeneidad étnica en la frecuencia de variantes genéticas entre una y otra población, por lo es que importante determinar el polimorfismo Q27E del gen ADBR2 en una muestra de población mexicana en la que se analice el fenotipo del TBP tipo I y II en relación con el SM. El utilizar un método de asociación basado en familias nos permite lograr un control étnico perfecto entre alelos caso y alelos control, a diferencia de los estudios clásicos de casos y controles, donde constantemente se describe la posibilidad de resultados falsos positivos debidos más a diferencias étnicas entre los casos y los controles que a la presencia real de asociación genética.

Este tipo de análisis del polimorfismo Q27E del gen ADBR2 es factible. Se cuenta con una muestra significativa de pacientes mexicanos con TBP I y II provenientes de la clínica de Trastornos del Afecto del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRF) y de algunos de sus familiares de primer grado. La parte experimental se llevó a cabo en la Subdirección de Investigaciones Clínicas del mismo instituto, en el Departamento de Genética Psiquiátrica, el cual cuenta con el equipo y los reactivos necesarios para llevar a cabo aislamiento, purificación y cuantificación del ADN genómico, así como equipo y los reactivos químicos para llevar a cabo la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), digestión por enzimas de restricción y electroforesis, que se pueden emplear para obtener los genotipos de la región de interés en el gen del ADBR2. Se cuenta con la experiencia para aplicar entrevistas diagnósticas estandarizadas y con un equipo multidisciplinario para aplicar cuestionarios y escalas, así como para obtener una muestra de sangre periférica por punción venosa.

Esta investigación permitirá continuar con un proyecto que está encaminado a la caracterización fenotípica de pacientes con TBP con la finalidad de obtener un banco de ADN de pacientes con el trastorno y familiares de primer grado que permita realizar análisis de genotipificación y de esta manera, identificar asociaciones entre algún fenotipo relacionado y variantes genéticas. Además la investigación ayudará a establecer la relación del TBP con el SM, con lo cual se tendrá una mayor información que impacte en la atención de los pacientes que padezcan estas patologías.

HIPÓTESIS SEGÚN EL TIPO DE ESTUDIO

HO: El polimorfismo Q27E del gen ADBR2 no se asocia con la susceptibilidad al SM en una muestra de pacientes con TBP tipo I y II de la población mexicana.

HA: El polimorfismo Q27E del gen ADBR2 se asocia con la susceptibilidad al SM en una muestra de pacientes con TBP tipo I y II de la población mexicana.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo General: Determinar la asociación entre el polimorfismo Q27E del gen ADBR2 con el SM en pacientes con TBP tipo I y II y familiares de primer grado del INPRF.

Objetivos Específicos:

1. Determinar por medio de PCR los alelos que portan los pacientes y sus familiares (polimorfismo Q27E).
2. Determinar la correlación entre genotipos y/o alelos y características clínicas: presión arterial, perímetro abdominal, glucosa en suero, colesterol HDL en suero y triglicéridos en suero.

MATERIAL Y MÉTODO

Tipo de estudio

De asociación basada en familias, transversal y correlacional, según Feinstein.

Población en estudio y tamaño de la muestra

Se analizaron muestras de 269 personas, 108 de pacientes con TBP I ó II con genealogía mexicana y 161 de familiares de primer grado.

Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Criterios de Inclusión para pacientes

1. Ser paciente con diagnóstico de TBP I ó II basado en el DSM-IV.
2. Firmar carta de consentimiento informado.
3. Estar clínicamente estable (eutimia).
4. Obtener un valor menor de 10 puntos en escala de Young para manía y menor de 8 puntos en escala de depresión de Hamilton.
5. Tener genealogía mexicana (3-4 abuelos nacidos en México).

Criterios de inclusión para familiares

1. Participar voluntariamente, aún siendo menores de edad, mediante la firma de la carta de consentimiento informado.

2. En caso de ser menor de edad contar con consentimiento propio y por alguno de los padres o tutores.

3. Ser familiares de primer o segundo grado de un paciente reclutado en este estudio (padres, hermanos, hijos, medios hermanos).

Criterios de exclusión para pacientes

1. Incapacidad para dar consentimiento informado.

2. No cumplir con los criterios completos para trastorno bipolar de acuerdo con SCID-I.

Criterios de exclusión para familiares

1. Incapacidad para dar consentimiento informado.

2. Ser familiares de tercer grado en adelante (primos, sobrinos, etc.).

Criterios de eliminación

1. Poca cantidad o mala calidad de ADN a partir de la muestra de sangre o saliva, que impidiera obtener el genotipo de ADBR2.

2. Contar con un expediente clínico incompleto.

3. No completar las escalas en el proceso de valoración.

Recolección de datos

Una vez que se explicó detalladamente los procedimientos y objetivos del estudio, se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada participante.

Se aplicó SCID-I completo en los pacientes para comprobar el diagnóstico de TBP tipo I ó II y en los familiares para investigar su patología psiquiátrica.

Se aplicó un cuestionario de datos demográficos y antecedentes heredofamiliares.

De las 269 personas reclutadas se obtuvo una muestra sanguínea de 5 a 10 ml por cada participante. En algunos casos, en lugar de sangre, se obtuvo una muestra de saliva. Se registró la tensión arterial y el perímetro abdominal. De la muestra total, se invitó a participar por cada familia al paciente y a un familiar de primer grado para el estudio de laboratorio y somatométrico. En esta sub-muestra se excluyeron a personas con hipertensión arterial, diabetes mellitus y/o dislipidemia previamente diagnosticadas. De esta manera, se obtuvo la participación de 66 personas en esta etapa del estudio.

Procedimiento de laboratorio

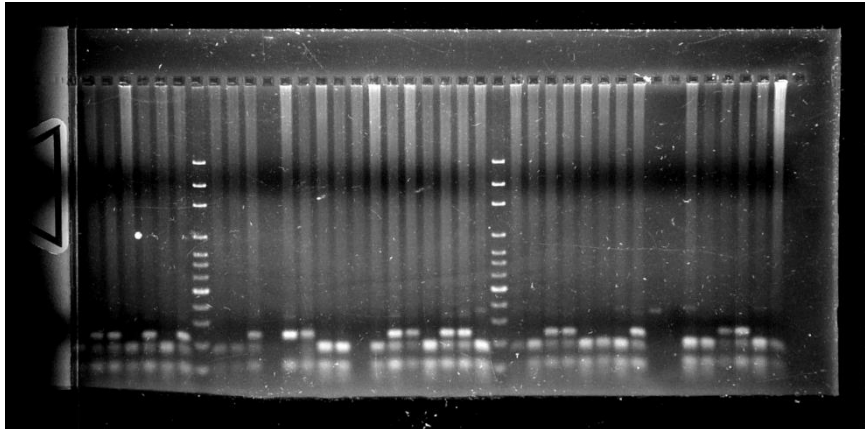
Se llevó a cabo extracción, aislamiento y purificación del ADN genómico a partir de leucocitos o células de descamación encontradas en la saliva. En ambos casos, se utilizaron soluciones salinas, detergentes, así como proteasa, para aislar el material genético presente en el núcleo. Se empleó una centrifuga Eppendorf 5810R, un incubador Amersham Life Science (a 65°C), baño húmedo Precision y Vórtex Daigger Genie2. Las muestras de sangre se procesaron en una cámara de bioseguridad clase 2 Labcon. Se emplearon paquetes de extracción para sangre FlexiGene de Qiagen. Cuando se contó con muestras de saliva, se empleó el paquete de extracción Oragene de DNAgenotek. El ADN se conservó en tubos eppendorf de 2 ml, con tapa de rosca a 4°C.

Para la detección de polimorfismo Q27E del gen ADBR2 se utilizó la técnica PCR. A partir de la pareja de oligonucleótidos 5'-GGCCCATGACCAGATCAGCA-3' y 5'-GAATGAGGCTTCCAGGCGTC-3 se amplificó la secuencia genómica que incluía el polimorfismo en cuestión. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 8 microlitros que contenía 5.15 microlitros de H₂O, 1 microlitro de Buffer Dream Taq 10X, 0.3 microlitros de DNTPS, 0.25 microlitros de Primer F, 0.25 microlitros de Primer R, 1 microlitro de dimetil sulfóxido (DMSO) y 0.05 microlitros de enzima Dream Taq. Tras una desnaturalización inicial de 95°C durante 3 minutos, el ADN fue amplificado mediante 30 ciclos de 1 minuto a 63°C, seguido de un paso final de extensión de 10 minutos a 72°C.

La digestión del DNA se llevó a cabo mediante una solución que contenía 4.8 microlitros de H₂O, 4.1 microlitros de buffer y mediante 0.15 microlitros la enzima de digestión Fnu4H1, en una solución total de 6 microlitros, a una temperatura de 37°C por un promedio de 4 horas.

Para visualizar los fragmentos de DNA amplificados se llevó a cabo una electroforesis de los productos de la PCR (Figura 2.).

Figura 2. Amplificación.

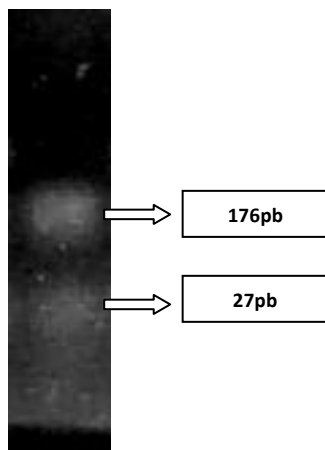


Se identificaron 3 posibles genotipos:

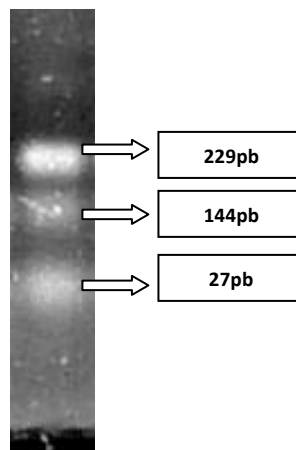
-Homocigoto Gln27Gln, que tras la digestión presenta 4 fragmentos de 27, 55, 97 y 174 pares de bases (pb). (Figura 3).

-Heterocigoto Gln27Glu, que tras la digestión presenta 5 fragmentos de 27, 55, 97, 144 y 229 pb (Figura 4).

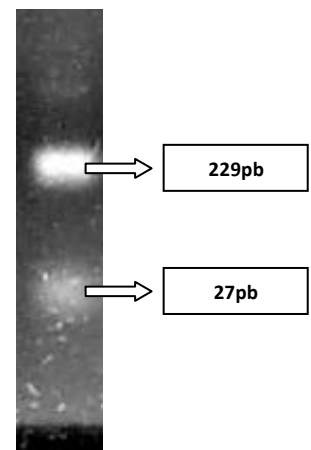
-Homocigoto Glu27Glu, que tras la digestión presenta 3 fragmentos de 27, 97, y 229pb (Figura 5).



**Figura 3. Genotipo
Q 27 Q**



**Figura 4. Genotipo
Q 27 E**



**Figura 5. Genotipo
E 27 E**

Valores de laboratorio y somatometría

Se tomaron como valores anormales de laboratorio y somatometría para cumplir

criterios de SM según el tercer Estudio NHANES:

Tensión arterial: \geq a 130/85mmHg.

Perímetro abdominal $>$ 102 cm para hombres y $>$ 88cm para mujeres.

Triglicéridos en suero $>$ 150mg/dL.

Colesterol HDL en suero $<$ 40mg/dL para hombres y $<$ 50mg/dL para mujeres.

Glucosa en ayunas en suero \geq 110mg/dL.

Variables

Variable independiente: Alelos y Genotipos.

Variable dependiente: Presencia del polimorfismo Q27E del gen ADBR2 en el SM en pacientes con TBP tipo I y II.

VARIABLES	TIPO DE VARIABLE	INSTRUMENTO DE MEDICION
Diagnóstico de Trastorno bipolar	Nominal	SCID-I
Diagnóstico de síndrome metabólico	Nominal	Análisis clínicos, registro de tensión arterial, medición de perímetro abdominal
Alelos y genotipos	Nominal	PCR y electroforesis

Análisis estadístico

Se utilizó el análisis ANOVA para analizar las variables cuantitativas de acuerdo a los grupos genotípicos (QQ, QE, EE). Se utilizó χ^2 para la comparación de las medidas cualitativas (sexo, parentesco y presencia o ausencia de SM) entre los grupos genotípicos. Debido a que nuestro fue transversal, se evaluó la Razón de Momios para la Prevalencia (RMP) con el fin de determinar la asociación entre alelos y genotipos con el SM, como variable dependiente.

Para el análisis de los resultados de genotipificación, se utilizó el programa FBAT (prueba de asociación basada en familias), que analizó si existió asociación alélica o genotípica, pero también si se encontraba algún ligamiento genético. Con esta técnica se impiden asociaciones que simplemente se deben a estructura poblacional (diferencias étnicas entre casos y controles), ya que los alelos de los pacientes con TBP (casos) son comparados con los alelos que sus padres no les transmitieron (controles), logrando un grupo control étnicamente perfecto. En FBAT se empleó el método TDT (prueba de desequilibrio en la transmisión), en el que se compararon los alelos transmitidos con los no transmitidos, en este caso se empleó el modelo genético aditivo, considerando el fenotipo como:

Afectado, cuando la persona presentó TBP tipo I ó II.

Sano, cuando en el caso de familiares, no se presentaba ningún tipo de psicopatología de acuerdo con SCID-I.

Definiciones

ALELO: Un alelo es cada una de las formas alternas que puede tener un gen, que se diferencian en su secuencia y que se pueden o no manifestar en modificaciones concretas de la función de ese gen. Al ser la mayoría de los mamíferos diploides estos poseen dos alelos de cada gen, uno de ellos procedente del padre y el otro de la madre. Cada par de alelos se ubica en igual locus o lugar del cromosoma.

Por alelo debe entenderse el valor de dominio que se otorga a un gen cuando rivaliza contra otro gen por la ocupación de posición final en los cromosomas durante la separación que se produce durante la meiosis celular. De ese valor de dominación del alelo procreador resultará la trasmisión, idéntica o distinta, de la copia o serie de copias del gen procreado. De acuerdo con esa potencia, un alelo puede ser dominante y expresarse en consecuencia en el hijo solamente con una de las copias procreadoras, por lo tanto, si el padre o la madre lo transmiten, el cromosoma del hijo lo expresará siempre; o bien, puede ser un alelo recesivo, por lo tanto, se necesitarán dos copias del mismo alelo, para que se exprese en el cromosoma procreado, esto es, deberá ser provisto al momento de la procreación por ambos progenitores. El concepto de alelo se entiende a partir de la palabra alelomorfo (en formas alelas), es decir, algo que se presenta de diversas formas dentro de una población de individuos²⁸.

GENOTIPO: El genotipo es el contenido del genoma específico de un individuo, en forma de ADN. Junto con la variación ambiental que influye sobre el individuo, codifica el fenotipo del individuo. De otro modo, el genotipo puede definirse como el conjunto de genes de un organismo y el fenotipo como el conjunto de rasgos de un organismo. En este estudio nos concentraremos en genotipos específicos posiblemente relacionados con el TBP y/o el síndrome metabólico.

PCR: es un método que permite sacar un gran número de copias de una secuencia de interés que pertenece a un fragmento cromosómico concreto dentro del genoma, en este caso, humano. El producto de la PCR suele ser de 100 a 600 pares de bases (es decir, mide de 100 a 600 nucleótidos). Para que el proceso funcione, se requiere diseñar dos oligonucleótidos, secuencias cortas del ADN complementarias a cada flanco de la región genómica a copiar (*primers*); éstos serán los encargados de delimitar la secuencia del producto de PCR. En el primer ciclo, un oligonucleótido se pega a una de las cadenas de la doble hélice de ADN y el otro se pega en la segunda cadena. Cada oligonucleótido mide aproximadamente 20-25 pares de bases. En ese momento interviene la polimerasa, encargada de que se agreguen uno a uno los nucleótidos de ADN para la formación de las nuevas cadenas, que son copias del fragmento de ADN original. En los siguientes ciclos, los oligonucleótidos se seguirán empleando tanto para flanquear el ADN genómico original como para flanquear los fragmentos recién polimerizados, lo cual conduce a una amplificación o copia del fragmento de manera exponencial.

El proceso de PCR inicia con la elevación de la temperatura a poco menos de 100°C (comúnmente entre 92°C y 98°C) para permitir la separación de las dos cadenas del ADN original (desnaturalización). Después desciende la temperatura hasta unos 72°C, lo cual facilita que los oligonucleótidos se peguen en los extremos del sitio a copiar, y al final se utiliza una temperatura para polimerizar las nuevas cadenas del ADN (temperatura de *annealing*). Para la polimerización se utiliza una enzima que es termoestable y que fue aislada de la bacteria *Thermus aquaticus*, la que naturalmente vive a altas temperaturas. Generalmente se llevan a cabo entre 30 y 40 ciclos de temperatura.

Cuando se utiliza la técnica de PCR en tiempo real, como en la presente investigación, al mismo tiempo que se realizan los ciclos de temperatura se obtienen los genotipos por detección de fluorescencia.

La electroforesis en gel es un grupo de técnicas empleadas por los científicos para separar moléculas basándose en propiedades como el tamaño, la forma o el punto isoeléctrico. La electroforesis en gel se utiliza generalmente con propósitos analíticos, pero puede ser una técnica preparativa para purificar moléculas parcialmente antes de aplicar espectrometría de masas, PCR, clonación o secuenciación de ADN. Las proteínas no tienen una estructura predecible como los ácidos nucleicos y, por tanto, sus velocidades de migración no son similares entre ellas. Incluso puede que no migren ni al aplicar una fuerza electromotriz (al encontrarse en su punto isoeléctrico). En estos casos, las proteínas se desnaturalizan mediante la adición de un detergente como el dodecilsulfato sódico/dodecilfosfato sódico (SDS/SDP) y un agente reductor como el 2-mercaptoetanol. Los detergentes otorgan una carga neta negativa a la proteína que les permite migrar a través del gel de poliacrilamida en relación directa a su masa, ya que la cantidad de cargas negativas que se unen a la proteína depende del tamaño de ésta, existiendo una relación carga/masa similar. Por otro lado, el agente reductor rompe los enlaces disulfuros, separando a la proteína en sus sub-unidades. Además, la desnaturalización hace que pierdan su estructura terciaria y cuaternaria, por tanto, su velocidad de migración es proporcional al tamaño y no a su estructura terciaria ni a su interacción con otras macromoléculas. Así, los más grandes se desplazan más lentamente.

Cuando se ha completado la electroforesis, las moléculas más pequeñas han llegado al ánodo. Entonces se pueden 'revelar' mediante la adición de un colorante específico

para hacerlas visibles. Se emplean compuestos como el bromuro de etidio, para los ácidos nucleicos, o tinción de plata, azul de coomassie o tinción fluorescente, para las proteínas. Asimismo se emplean otros métodos para visualizar la separación de la mezcla en el gel. Si el reactivo es fluorescente bajo la luz UV, se puede simplemente hacer una fotografía de la placa bajo dicha luz. También, si las moléculas contienen átomos radiactivos se puede efectuar una autorradiografía. Si se han inyectado varias mezclas una junto a otra en la placa, se producirán separaciones paralelas. Cada separación mostrará distintas bandas correspondientes a cada componente de la mezcla. Si las separaciones son incompletas, se dará un solapamiento entre bandas haciendo indistinguibles dos o más componentes.

Si se observan bandas que recorrieron la misma distancia en la electroforesis, significa que tienen el mismo peso molecular. Existen marcadores especiales que contienen una mezcla de moléculas de tamaño conocido. Si se hace una electroforesis de un marcador y en otro carril contiguo una mezcla desconocida, las bandas observadas en el marcador pueden ser comparadas con las obtenidas en la mezcla desconocida para determinar su tamaño o punto isoelectrico. La distancia a la que se encuentra la banda del inicio del gel es (aproximadamente) inversamente proporcional al logaritmo del tamaño de la molécula^{29, 30}.

Escalas utilizadas

SCID-I.

Un cuestionario para recabar datos demográficos, historia médica y árbol genealógico detallado, de tres a cuatro generaciones.

Escala de Depresión de Hamilton

Escala de Manía de Young.

SCID-I

La Entrevista Clínica Estructurada para los Trastornos del Eje I (SCID-I) es un cuestionario formal semiestructurado, cuya finalidad es realizar los diagnósticos más importantes del eje I, de acuerdo con el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-IV). Se utilizó SCID-I para aumentar la fiabilidad del dictamen psiquiátrico, a través de la estandarización del proceso de evaluación y para aumentar la validez diagnóstica, sobre todo en casos complejos, facilitando la aplicación de los criterios del DSM-IV y la indagación sistemática de síntomas que de otra forma podrían pasar desapercibidos. Dentro de sus características más importantes se encuentra el ser un instrumento eficiente y de fácil manejo, que puede ser aplicado en el ámbito clínico mediante personal calificado para ello.

La SCID-I ahorra tiempo, evalúa a profundidad, es fácil de utilizar, y proporciona toda la información necesaria, mejorando la precisión diagnóstica.

Consta de 3 elementos:

-Guía del usuario. Trata las patologías más comunes. Proporciona las instrucciones necesarias para usar correctamente el instrumento. Presenta diversas discusiones detalladas de cómo llegar al criterio diagnóstico del DSM-IV. También están incluidos un número de casos que ayuda al especialista en su aprendizaje del uso de SCID-I.

-Cuaderno de puntuaciones. Contiene numerosas preguntas para la entrevista, así como los criterios diagnósticos del DSM-IV. Está especialmente diseñado para utilizarse con la hoja de resultados, con una duración de 45 a 90 minutos por sesión.

Presentación tabulada, que permite al especialista pasar directamente de una sección a otra.

-Cuaderno de aplicación. Contiene un resumen de los criterios diagnósticos. Se usa como archivo de las decisiones diagnósticas.

La SCID-I produce diagnósticos más fiables, precisos y válidos que las entrevistas clínicas normales. La fiabilidad entre entrevistadores suele rondar entre 0.70 y 1.00³¹, sin embargo, en estudios realizados en su traducción al español se ha encontrado una fiabilidad para pacientes psiquiátricos: kappa= 0.61; para pacientes no psiquiátricos: kappa= 0.37; para diagnósticos del trastorno bipolar: kappa=0.84³². Fue traducida al español por el Dr. Jordi Blanch Andren.

En México, en estudios realizados en el INPRF, se ha utilizado para determinar, clasificar y registrar a pacientes con trastornos afectivos³³.

ESCALA DE DEPRESIÓN DE HAMILTON

Consta de 17 ítems que evalúan el perfil sintomatológico y la gravedad del cuadro depresivo. Debe ser administrada por un clínico. El marco de referencia temporal es en el momento de la entrevista, excepto para algunos ítems, como los del sueño, en los que se exploran los 2 días previos. Para cada ítem la escala proporciona criterios operativos de puntuación. Proporciona una puntuación global de gravedad del cuadro y una puntuación de 3 factores o índices: melancolía, ansiedad y sueño. La puntuación global se obtiene sumando las puntuaciones de cada ítem. Para la depresión bipolar se han propuesto como puntos de corte³⁴:

- 0-7: no depresión
- ≥ 8 : depresión³⁵.

La confiabilidad interna de la Escala de Depresión de Hamilton es adecuada, pero muchos ítems de la escala contribuyen poco a la medición de la severidad de la depresión; otros tienen confiabilidad pobre. Para muchos ítems, el formato para las opciones de respuesta no es óptimo. La validez del contenido es pobre; la validez convergente y la validez discriminante son adecuadas. La estructura de la Escala de Depresión de Hamilton es multidimensional ³⁶. Fue validada en español por Ramos en 1986, encontrando los siguientes datos:

Fiabilidad: En sus dos versiones, esta escala posee una buena consistencia interna (alfa de Cronbach entre 0,76 y 0,92, según estudios). El coeficiente de correlación intraclases es de 0,92 en un estudio llevado a cabo por Pott³⁷. La fiabilidad interobservador oscila, según autores, entre 0,65 y 0,9.

Validez: Su correlación con otros instrumentos de valoración global de la depresión, como la Escala de Depresión de Montgomery-Asberg, el Inventario de Sintomatología Depresiva y la Escala de Melancolía de Bech, oscila entre 0,8 y 0,9.

Su validez no es la misma en todas las poblaciones, siendo menor en pacientes de edad avanzada por el elevado peso de los síntomas somáticos, aunque ha mostrado buenos índices psicométricos en subpoblaciones con características especiales, tales como pacientes alcohólicos y pacientes con demencia^{38, 39} y mantiene un buen rendimiento en población geriátrica⁴⁰.

Posee buena sensibilidad para detectar cambios en el estado clínico del paciente depresivo en relación al tratamiento, aunque se ha sugerido que sería más sensible a los cambios acontecidos en los síntomas de ansiedad que en los de depresión⁴¹.

El índice de melancolía, o subescala formada por los ítems arriba citados, ha mostrado una muy estrecha correlación con la versión completa de la escala, y una sensibilidad

al cambio terapéutico similar a ésta y similar también a la escala de Montgomery-Asberg⁴².

ESCALA DE MANÍA DE YOUNG

Está constituida por 11 ítems que evalúan los síntomas de la manía, por lo que su uso no resulta tan apropiado en pacientes con TBP tipo II. Los ítems han de ser puntuados por el clínico basándose en el relato del paciente y en su propia observación. Para puntuar dispone de una escala de intensidad que oscila unas veces entre 0 y 4, y otras entre 0 y 8 (ítems 5, 6,8 y 9). Estos 4 ítems tienen el doble de valor para compensar la escasa cooperación de los pacientes maniacos graves. El marco de referencia temporal son las últimas 48hrs. Es heteroaplicada por un clínico entrenado en su uso. Está validada en español⁴³. El tiempo de duración aproximado de la entrevista es de 15-30 minutos. Proporciona una puntuación total que es la suma de las puntuaciones en los 11 ítems. Esta puntuación oscila entre 0 y 60 puntos. En general se acepta que una puntuación:

- 6≤: es compatible con eutimia
 - 7-20: es compatible con episodio mixto
 - >20: es compatible con episodio maniaco
- A mayor puntuación, a mayor gravedad del cuadro maniaco.

Fue validada en español por Apiquián y colaboradores encontrando que el alfa de Cronbach del instrumento fue de 0.84. La confiabilidad test-retest fue de 0.93. El mejor punto de corte del instrumento para fines diagnósticos se ubicó en los 28 puntos, con una sensibilidad de 96% y especificidad del 100%⁴⁴.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

A cada paciente o familiar se le invitó al estudio a participar de manera voluntaria y se le brindó una explicación de los procedimientos, objetivos, duración y posibles ventajas del estudio. Posteriormente se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada persona. La descripción del proyecto incluyó información sobre la confidencialidad del estudio, la posibilidad de abandonar el mismo en cualquier momento, si así se deseaba y el hecho de que la atención médica no cambiaría de aceptar o no participar en la investigación. En ocasiones en las que fue necesario, después de la toma de la muestra sanguínea se otorgó un desayuno a los participantes.

Éste fue un estudio con riesgo mínimo en el que se incluyeron exámenes de diagnóstico, valoración de la personalidad, registro de datos demográficos, medidas corporales, tensión arterial. También se tomó una muestra sanguínea (de 5 a 10ml) por cada participante. En caso de que no se identificara una vena apropiada para punción o el individuo no deseara donar una muestra sanguínea, se le invitó a donar una muestra de saliva. Cuando algún participante tuvo molestias a causa de la punción, se le brindó seguimiento médico para asegurar que no hubiera ninguna complicación. Siempre se utilizó material completamente estéril y nuevo. Si en la entrevista se tocó algún tema delicado que pudiera haber provocado malestar psicológico en el participante, se interrumpió inmediatamente la entrevista, ofreciendo asistencia psiquiátrica.

Esta investigación forma parte de un proyecto ya aprobado por el comité de ética, el cual tiene como objetivo caracterizar fenotípicamente a pacientes con TBP para obtener un banco de ADN de pacientes con el trastorno y familiares de primer grado.

El banco de ADN permite realizar análisis de genotipificación con el objetivo de encontrar algún fenotipo relacionado con variantes genéticas, como es el caso de este estudio.

RESULTADOS

De la muestra inicial de 269 participantes reclutados, se invitó a participar por cada familia al paciente y a un familiar de primer grado, a quienes no se les hubiera diagnosticado previamente diabetes mellitus, hipertensión arterial y/o dislipidemia, por lo que al final se obtuvo la participación de 66 personas para el estudio metabólico.

De los 66 participantes que completaron el estudio metabólico se encontró que 40 presentaron el genotipo Q27Q, 22 presentaron el genotipo Q27E y solamente 4 presentaron el genotipo E27E. El promedio de la edad de los participantes fue de 40.01 años, siendo 15 hombres y 51 mujeres. De los participantes, 33 eran pacientes (50% de la muestra) y los 33 restantes eran familiares de primer grado. Al realizar una asociación entre la edad, el sexo y el parentesco con los genotipos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.90, 0.52$ y 0.70 , respectivamente).

Se encontró que de los 40 participantes con genotipo Q27Q, 13 de ellos (32.5%) cumplían los criterios para padecer SM; de los 22 participantes con el genotipo Q27E, 10 cumplieron criterios para la presencia de SM (45.4%); de los 4 participantes con polimorfismo E27E, 1 cumplió criterios para SM (25%). No se encontraron datos de significancia estadística ($p=0.53$).

Con respecto al número de criterios para la presencia de SM, se encontró que los participantes con genotipo Q27Q presentaban en promedio 1.8 (D.E. 1.2) criterios, los participantes con el genotipo Q27E presentaban 2.2 (DE 1.3) y los participantes con genotipo E27E 2.3 (DE 0.5). No se encontraron datos de significancia estadística ($p=0.44$).

Al tratar de encontrar una asociación entre los 3 genotipos y los criterios para presentar SM no se encontraron datos estadísticamente significativos, encontrándose para el perímetro abdominal $p=0.36$, para la tensión arterial sistólica $p=0.81$, tensión arterial diastólica $p=0.82$, para el colesterol HDL $p=0.46$, para los triglicéridos $p=0.96$ y para la para la glucosa $p=0.44$ (Tabla 1).

Para el análisis de la asociación entre genotipos y alelos con el SM se utilizó RMP, encontrándose para el genotipo Q27Q una RMP de 1, para el genotipo Q27E una RMP 1.7 (IC 95%, RMP 0.6-5, $p=0.31$), para el polimorfismo E27E una RMP de 0.7 (IC 95%, RMP 1-7.3, $p=0.75$), sin embargo ninguno de los resultados fue significativo.

Con respecto al análisis de las variantes alélicas y su asociación con el SM se encontró para el alelo Q una RMP de 0.6 (IC 95%, RMP 0.6-5.8, $p=0.62$) y para el alelo E una RMP de 1.5 (IC 95%, RMP 0.5-4.2, $p=0.42$), no encontrándose datos estadísticamente significativos (Tabla 2).

Tabla 1. Comparación por genotipo de criterios para síndrome metabólico en la muestra de estudio.

	GENOTIPO			p
	Q27Q n=40	Q27E n=22	E27E n=4	
Edad*	40.6 (15.5)	42.1 (12.1)	39.0 (20.9)	0.90
Sexo [‡]				
Hombre	10 (25.0)	5 (22.7)	0 (0)	0.52
Mujer	30 (75.0)	17 (77.3)	4 (100.0)	
Parentesco [‡]				
Paciente	21 (52.5)	10 (45.5)	2 (50.0)	0.70
Padre	1 (2.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Madre	9 (22.5)	8 (36.4)	2 (50.0)	
Hermano	1 (2.5)	2 (9.1)	0 (0.0)	
Hermana	7 (17.5)	1 (4.5)	0 (0.0)	
Medio hermano	1 (2.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Media hermana	0 (0.0)	1 (4.5)	0 (0.0)	
Síndrome Metabólico [‡]				
Negativo	27 (67.5)	12 (54.5)	3 (75.0)	0.53
Positivo	13 (32.5)	10 (45.5)	1 (25.0)	
Criterios de Síndrome Metabólico*				
Perímetro abdominal	97.8 (14.2)	103.3 (16.2)	97.6 (3.7)	0.36
Tensión Arterial(mmHg)				
- Sistólica	120.5 (21.3)	119.4 (23.8)	108.8 (3.0)	0.59
- Diastólica	75.5 (9.7)	77.3 (12.5)	76.3 (10.5)	0.81
Colesterol HDL (mg/dL)	48.5 (12.3)	48.4 (11.9)	44.5 (11.4)	0.82
Triglicéridos (mg/dL)	169.3 (135.3)	147.5 (81.4)	99.5 (46.6)	0.46
Glucosa (mg/dL)	94.8 (13.0)	94.0 (12.5)	95.8 (7.9)	0.96
No. Criterios	1.8 (1.2)	2.2 (1.3)	2.3 (0.5)	0.44

* Promedio (Desviación Estándar), ANOVA

‡ Frecuencia (Porcentaje), Kruskal-Wallis (χ^2)

Tabla 2. Análisis bivariados para síndrome metabólico.

	Síndrome Metabólico		RMP	Intervalo de Confianza 95%	p
	n (%)				
	No	Si			
Genotipo					
Q27Q	27 (64.3)	13 (54.2)	1		
Q27E	12 (28.6)	10 (41.7)	1.7	0.6 – 5.0	0.31
E27E	3 (7.1)	1 (4.2)*	0.7	1.0 – 7.3	0.75
Alelo 1					
Q	39 (92.9)	23 (95)			
E	3.00 (7.1)	1 (4.2)*	0.6	0.6 – 5.8	0.62
Alelo 2					
Q	27 (64.3)	13 (54.2)	1		
E	15 (35.7)	11(45.8)	1.5	0.5 – 4.2	0.42

RMP = Razón de Momios para la Prevalencia

* Se utilizó estadístico exacto de Fisher

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Al hacer el análisis estadístico no se encontró asociación entre la presencia de polimorfismos del gen ADBR2 y la presencia de SM en población mexicana con TBP tipo I y II y familiares de primer grado. No se encontró ninguna asociación entre los genotipos Q27Q, Q27E y E27E del gen ADBR2 y los criterios para SM (tensión arterial, perímetro abdominal, glucosa en suero, triglicéridos en suero y colesterol HDL en suero). Sin embargo, se detectó una tendencia que muestra que los homocigotos para el alelo Q (Q27Q) presentan en promedio menos criterios diagnósticos para el SM, que los heterocigotos (Q27E) y éstos a su vez menos criterios que los homocigotos para E (E27E). Cabe señalar que el subgrupo de personas homocigotas para E estaba compuesto únicamente por 4 sujetos, lo cual indica que se requeriría aumentar la muestra.

Los polimorfismos genéticos son variantes del genoma que aparecen por mutaciones en algunos individuos, se transmiten y adquieren cierta frecuencia en la población tras múltiples generaciones, pudiendo ser silentes, proporcionar ventajas a los individuos o contribuir a causar o incrementar la susceptibilidad a enfermedades.

Un polimorfismo se caracteriza porque diferentes individuos presentan distintos nucleótidos o variantes en una posición concreta del genoma, cuenta con por lo menos con dos variantes genéticas y está presente como mínimo en 1% de la población.

La descripción estadística de un polimorfismo consiste en estimar frecuencias alélicas y genotípicas, por lo que el polimorfismo constituye una variable categórica con varios genotipos posibles y se suele considerar como categoría de referencia al grupo de individuos homocigotos para el alelo más frecuente. Para evaluar la asociación de un polimorfismo con la enfermedad se construye la tabla de contingencia

correspondiente y se puede contrastar la hipótesis de asociación mediante un test de la χ^2 . También se pueden calcular la *RMP* de cada genotipo respecto de la referencia para cuantificar la magnitud de la asociación⁴⁵.

Al hacer un análisis de los genotipos se encontró que el más prevalente fue el Q27Q representando el 60.6% del tamaño de la muestra, seguido del Q27E con un 33.3% y del E27E con un 6.06%.

Se sabe respecto al polimorfismo Q27E que las personas portadoras del alelo E y que consumen además dietas muy ricas en carbohidratos tienen un riesgo 2,5 veces mayor de desarrollar obesidad y SM. Por otro lado, las personas portadoras de este alelo tienen menos capacidad para utilizar los depósitos de grasa como fuente de energía durante el ejercicio.

En un estudio llevado a cabo en Suiza se encontró que la presencia del genotipo Q27Q en los participantes se encontraba fuertemente asociado a la obesidad con una razón de momios de 10.4 y una $p=0.003$. Los participantes con el genotipo Q27Q presentaban un exceso de peso de hasta 20kg; además se encontró hasta en un 50% un aumento en el tamaño de los adipocitos y presentaban distribución de la grasa a nivel central y resistencia a la insulina. Se propuso que el genotipo Q27Q es un marcador importante para la obesidad y factores de riesgo para cumplir criterios de SM, ya que se encontró presente en un 23% de los casos en comparación del 3% presente en los controles⁴⁶.

Es posible que debido al tamaño pequeño de la muestra que fue incluida en el registro de la tensión arterial, nivel de triglicéridos en suero, nivel de glucosa en suero y nivel de colesterol HDL en suero en comparación con la muestra total no se lograra encontrar datos estadísticamente significativos al momento de analizar las variables

cuantitativas de acuerdo a los grupos genotípicos (Q27Q, Q27E y E27E) y al comparar las medidas cualitativas (sexo, parentesco y presencia o ausencia de SM) entre los grupos genotípicos y al tratar de determinar la asociación entre alelos y genotipos con el SM.

Sin embargo, nos encontramos ante una investigación pionera cuya fortaleza es iniciar con el estudio de polimorfismos, como el de Q27E del gen ADBR2 en población mexicana para determinar genotipos y las variables alélicas presentes específicamente en mestizos de nuestro país. El proyecto general del cual se desprendió este trabajo está encaminado a la caracterización fenotípica de pacientes con TBP con la finalidad de obtener un banco de ADN de pacientes con el trastorno y familiares de primer grado. Éste estudio permitió realizar análisis de genotipificación del polimorfismo Q27E, lo que abre el camino para estudios futuros que profundicen sobre este tópico de investigación.

Al contar con una muestra significativa de pacientes con TBP tipo I y II mexicanos provenientes de la clínica de Trastornos del Afecto del INPRF y familiares de primer grado se podría realizar un estudio más amplio, que incluya un número mayor de pacientes y más miembros de cada familia, para poder tener un grupo de investigación con un mayor número de participantes que pueda arrojar al análisis estadístico resultados más precisos.

CONCLUSIONES

- 1.- No se encontró asociación entre el polimorfismo Q27E del gen ADBR2 con el SM en población mexicana con TBP tipo I y II y familiares de primer grado, por lo que se comprobó la hipótesis nula.
- 2.- El genotipo que presenta una mayor prevalencia en la población estudiada es el Q27Q, el cual en la población suiza se encontró asociado con la obesidad y la resistencia a la insulina, dos fuertes factores de riesgo para padecer SM.
- 3.- Posiblemente, debido al tamaño pequeño de la muestra que cumplía con determinación del genotipo y las medidas de la tensión arterial, perímetro abdominal, nivel de triglicéridos en suero, nivel de glucosa en suero y nivel de colesterol HDL, fue que no se logró determinar con más precisión si había o no datos estadísticamente significativos.
- 4.- Se identificó una tendencia en la cual los homocigotos Q27Q presentaban menos criterios para SM que los heterocigotos, quienes portan una copia del alelo E y éstos a su vez presentaban menos criterios que los que portan 2 copias del E (homocigotos E27E). La ausencia de un resultado significativo en este caso podría deberse a que hubo sólo 4 personas homocigotas para e (E27E). El alelo E también ha sido implicado en el SM en otros estudios.
- 5.- Este es un estudio pionero cuya fortaleza es iniciar el estudio de polimorfismos en población mexicana para determinar genotipos y las variables alélicas que se asocian con SM en pacientes con TBP, lo que abre el camino para estudios futuros que profundicen sobre este tópico de investigación.

6.- Se cuenta con una base de datos en la que la mayoría de los participantes tienen estudiado el genotipo que presentan, por lo que sería conveniente recabar información faltante para poder tener un grupo de investigación con un mayor número de participantes que pueda arrojar al análisis estadístico otro tipo de resultados.

ale
Rovoy



Calz. México-Xochimilco 101,
Col. San Lorenzo Huipulco
Del. Tlalpan, C.P. 14370, México, D.F.

INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRIA
RAMON DE LA FUENTE MUÑIZ

Tel. 41605050
<http://www.impcdsm.edu.mx>

MEMORANDUM

"2011, Año del Turismo en México".

Para: **Dra. Danelia Mendieta Cabrera**
Presidenta del Comité de Tesis

Fecha: Junio 7, 2011.

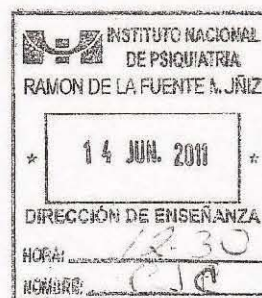
De: **Dr. Jorge J. González Olivera**
Presidente del Comité de Ética

Por este medio, me permito hacerle de su conocimiento que este Comité de Ética se encuentra enterado que el **Dr. Eder Patiño Rivera** quien tiene a su cargo el proyecto: "Estudio de asociación entre el polimorfismo Q27E del gen ADBR2 y el síndrome metabólico en pacientes con trastorno bipolar" y que forma parte del macroproyecto: "Estudio de asociación entre el trastorno bipolar y variantes genéticas candidatas: en busca de endofenotipos" a cargo de la Dra. Adriana Díaz Anzaldúa.

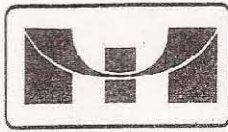
Sin otro particular, le hago llegar un atento saludo.

Atentamente,

061354



C.c.p. Dr. Héctor Sentíes Castellá, Director de Enseñanza.- Presente



INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRIA
RAMON DE LA FUENTE MUÑIZ

Calz. México - Xochimilco 101,
Col. San Lorenzo Huipulco,
Deleg. Tlalpan, C.P. 14370, México, D.F.

Tel. 56 55 28 11, Fax 56 55 04 11,
<http://www.impcdsm.edu.mx>

"2011, año del turismo en México"

Comité de Ética en Investigación

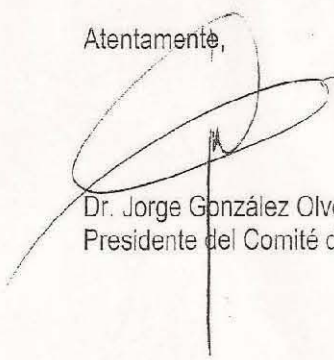
Abril 18, 2011.

Dra. Adriana Díaz Anzaldúa
Investigador Principal
Presente

Estimada doctora Díaz,

Por medio de la presente me permito informarle que el proyecto titulado:
"Estudio de asociación entre el trastorno bipolar y variantes genéticas candidatas: en busca de endofenotipos" ha sido **APROBADO** por el Comité, ya que se considera que cumple con los requerimientos éticos y metodológicos establecidos.

Atentamente,



Dr. Jorge González Olvera
Presidente del Comité de Ética en Investigación.

C.c.p. Dr. Francisco Pellicer Graham, Director de Investigaciones en Neurociencias.-Presente
Dr. Carlos Berlanga Cisneros, Secretario Técnico de la Comisión de la Investigación

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

-
- ¹ Jackson S. The various relationships of mania and melancholia, in Melancholia and Depression: From Hippocratic Times to Modern Times. New Haven, Conn, Yale University Press; 1986.
- ² Swann A. What Is Bipolar Disorder?. Am J Psychiatry 2006; 163(2):2.
- ³ Brown S. Clínicas psiquiátricas de norteamérica. Trastorno bipolar. Elsevier; 2006.
- ⁴ American Psychiatric Association. DSM IV-TR. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. TR Barcelona: Masson, SA.; 2002.
- ⁵ Medina-Mora ME. Prevalencia de trastornos mentales y uso de servicios: resultados de la encuesta nacional de epidemiología psiquiátrica en México. Salud Mental 2003; Vol. 26, No. 4.
- ⁶ Sadock. Sinopsis de psiquiatría. 10ma Ed. Wolters Kluwer, Lippincott Williams and Wilkins; 2009.
- ⁷ McElroy S L. Axis I Psychiatric Comorbidity and Its Relationship to Historical Illness Variables in 288 Patients with Bipolar Disorder. Am J Psychiatry 2001; 158 (3):3.
- ⁸ McIntyre R. Medical Comorbidity in Bipolar Disorder: implications for Functional Outcomes and Health Service Utilization. Psychiatric Services 2006; Vol. 57 No. 8.
- ⁹ Sadock B. Sinopsis de Psiquiatría. 10ma Ed. Lippincott Williams and Wilkins; 2009.
- ¹⁰ Kannel W, Mcgee D. Diabetes and Cardiovascular disease. The Framingham Study. J AM Med Assoc 1997; 241: 2035- 2038.
- ¹¹ Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes 1988; 1595-1607.
- ¹² Albert KG, Zimmet PZ. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabetes Med 1998; 15: 539-553.
- ¹³ Okosun IS, Liao Y, Rotimi CN, Prewitt TE, Cooper RS. Abdominal adiposity and clustering of multiple metabolic syndrome in White, Black and Hispanic Americans. Ann Epidemiol. 2000; 10:263-70.
- ¹⁴ Miranda JP, De Fronzo RA, Califf RM, Guyton JR. Metabolic syndrome: Definition, pathophysiology and mechanisms. Am Heart J. 2005; 149:33-45.
- ¹⁵ Weyer C, Foley JE, Bogardus C, Tataranni PA, Pratley RE. Enlarged subcutaneous abdominal adipocyte size, but not obesity itself, predicts type II diabetes independent of insulin resistance. Diabetologia. 2000; 43:1498-506.

-
- ¹⁶ Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among U.S. adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002; 287: 356-64.
- ¹⁷ Velásquez-Monroy O, Rosas-Peralta M, Laraesqueda A, Pastelín-Hernández G, Grupo ENSA 2000, Attie F, Tapia-Conyer R. Hipertensión Arterial en México: Resultados de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA). *Arch Cardiol Mex* 2002; 72: 71-84.
- ¹⁸ Han TS, Sattar N, Williams K, Gonzalez-Villalpando C, Lean MEJ, Haffner SM. Prospective study of C-reactive protein in relation to the development of diabetes and metabolic syndrome in the Mexico City Diabetes Study. *Diabetes Care* 2002; 25: 2016-21.
- ¹⁹ Trejo-Gutiérrez J. Epidemiología del síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2: ¿El diluvio que viene? *Archivos de cardiología de México* 2004; Vol. 74, Supl. 2, Abril-Junio:S267-S270.
- ²⁰ National Cholesterol Education Program Expert Panel. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of high Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 85:2486-2497.
- ²¹ Garza F. Prevención y tratamiento del síndrome metabólico. *Revista Español de Cardiología* 2005; Vol. 5(4):46-52.
- ²² Fagiolini A, Frank E, Houck PR, Mallinger A, Swartz H, Buysse DJ, Ombao H, Kupfer DJ. Prevalence of obesity and weight change during treatment in patients with bipolar I disorder. *J Clin Psychiatry* 2002; 63(6):528-33.
- ²³ Pollex RL, Hegele RA. Genetic determinants of the metabolic syndrome. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006; 3(9):482-489.
- ²⁴ Mirow AL, Kristbjarnarson H. A linkage study of distal chromosome 5q and bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 1994; 36(4):223-9.
- ²⁵ Shioji K, Kokubo Y, Mannami T, Inamoto N, Morisaki H, Mino Y, Et al. Association between hypertension and the alpha-adducin, beta1-adrenoreceptor, and G-protein beta3 subunit genes in the Japanese population; the Suita study. *Hypertens Res* 2004; 27: 31-37.
- ²⁶ Pérez S. Síndrome metabólico. *Revista Bioanálisis* 2007; Año 2 No.15 Mayo-Junio.
- ²⁷ Rivas A. Importancia de los aspectos genéticos de la obesidad en la cirugía bariátrica. *Cirugía endoscópica* 2008; Vol.9 No.4 Oct.-Dic.
- ²⁸ Griffiths, Montserrat Elías Aranz; *Genética*. 3ª Ed. McGraw-Hill Interamericana; 2002.

-
- ²⁹ Bandow J, Baker JD, Berth M, Painter C, et al. Improved image analysis workflow for 2-D gels enables large-scale 2-D gel-based proteomics studies - COPD biomarker discovery study. *Proteomics* 2008, Volume: 8, Issue: 15, Pages: 3030-3041.
- ³⁰ Berth M, Moser FM, Kolbe M, et al. *The state of the art in the analysis of two-dimensional gel electrophoresis images*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2007; 76 (6):1223–43.
- ³¹ First, M., Spitzer, R., Gibbon, M. y Williams, J. Entrevista clínica estructurada para los trastornos del eje I del DSM IV: SCID-I. Barcelona Masson; 1999.
- ³² First M, Spitzer R, Williams J. Structured Clinical Interview for DSM-IV (SCID-I) (User's Guide and Interview). Reserch Versión. New Cork: Biometrics Research Departament, New Cork Psychiatric Institute.
- ³³ Corona R, Berlanga C, Gutiérrez D, Fresán A. La detección de casos de trastorno bipolar por medio de un instrumento de tamizaje: el Cuestionario de trastornos del ánimo versión en español. *Salud Mental* 2007; 30 (2): 50-57.
- ³⁴ Nierenberg AA, DeCecco LM. Definitions of antidepressant treatment response, remission, nonresponse, partial response, and other relevant outcomes: a focus on treatment-resistant depression. *J Clin Psychiatry* 2001; 62 suppl 16:5-9.
- ³⁵ García –Portilla MP. Banco de instrumentos básicos para la práctica de la psiquiatría clínica. 5ta Ed. Ars Médica; 2002.
- ³⁶ *Bagby M*. The Hamilton Depression Rating Scale: Has the gold standard become a lead weight? *American Journal of Psychiatry* 2004; 161(12):2163-2177.
- ³⁷ Potts M, Daniels M, Burnam A. A structured interview version of the Hamilton Depression Rating Scale: evidence of reliability and versatility of administration. *J Psychiatr Res*, 1.990; 24: 335-50.
- ³⁸ Willenbring M. Measurement of depression in alcoholics. *J Stud Alcohol* 1986; 47: 367-372.
- ³⁹ Lichtenberg P, Marcopulos B, Steiner D et al. Comparison of the Hamilton Depression Rating Scale and the Geriatric Depression Scale: detection of depression in dementia patients. *Psychol Rep* 1992; 70: 515-521.
- ⁴⁰ Burns A, Lawlor B, Craig S. Assessment scales in old age psychiatry. London: Martin Dunitz Ltd, 1999; 6: 291-293.
- ⁴¹ Maier W, Philipp M, Hauser I et al. Improving depression severity assessment: content, concurrent and external validity reliability of three observer depression scales. *J Psychiatr Res* 1988; 22: 13-19.

⁴² Ramos J C. Validación de la versión castellana de la escala de Hamilton para la depresión. Actas Luso-Esp Neurol Psiquiatr 1986; 14: 324-334.

⁴³ Colom F, Vieta E. Versión española de una escala de evaluación de la manía: validez y fiabilidad de la Escala de Young. Med Clin 2002; 119:366-371.

⁴⁴ Apiquian R. Validez y confiabilidad de la Escala para la Evaluación de la Manía. Salud Ment 1997; 20(3): 23-29.

⁴⁵ Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios Epidemiológicos. Gac Sanit. 2005; 19(4):333-41.

⁴⁶ Large V, Hellström L, Reynisdottir S, Lönnqvist F, Eriksson P, Lannfelt L, Arner P. Human Beta-2 Adrenoceptor Gene Polymorphisms Are Highly Frequent in Obesity and Associate with Altered Adipocyte Beta-2 Adrenoceptor Function. J Clin Invest 1998; 100 (12): 3005-13.