



Facultad de Medicina



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz"

Estudio de asociación entre el polimorfismo A-2518G del gen MCP-1 y el
trastorno depresivo mayor.

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN PSIQUIATRÍA QUE PRESENTA:

Adriana Harumi Hirata Hernández

Dra. Beatriz Camarena Medellín

Tutora Metodológica

Dra. Claudia Becerra Palars

Tutor Teórico

México D.F. a de Mayo de 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN..... 6

CAPÍTULO 1..... 7

1.1 Epidemiología del Trastorno Depresivo Mayor. _____	7
1.2 Neurobiología del Trastorno Depresivo Mayor. _____	7
1.3 Citocinas y Trastorno Depresivo Mayor. _____	11
1.4 Proteína-1 Quimioatrayente de Monocitos. _____	13
1.5 Genética del TDM _____	14
1.6 Estudios de asociación genética _____	15
1.6.1 Estudios de asociación genética del gen MCP-1 _____	15
1.6.2 Estudios de asociación entre el polimorfismo A-2815G del gen del MCP-1 y las enfermedades psiquiátricas _____	17

CAPÍTULO 2..... 19

2.1 Justificación. _____	19
2.2 Hipótesis. _____	19
2.3 Pregunta de investigación. _____	20
2.4 Objetivos de la investigación. _____	20
2.4.1 Objetivo general. _____	20
2.4.2 Objetivos Específicos. _____	20

CAPÍTULO 3..... 21

3.1 Diseño del estudio. _____	21
3.2 Ubicación espacio temporal. _____	21
3.3 Población en estudio. _____	21
3.4 Sujetos de estudio. _____	21
3.5 Criterios de selección de pacientes _____	22
3.5.1 Criterios de inclusión: _____	22

3.5.2 Criterios de exclusión:	22
3.5.3 Criterios de eliminación:	23
3.6 Criterios de selección de sujetos control	23
3.6.1 Criterios de inclusión:	23
3.6.2 Criterios de exclusión:	23
3.6.3 Criterios de eliminación:	23
3.7 Variables.	24
3.8 Clinimetría.	25
3.8.1 Mini Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional (MINI).	25
3.8.2 Escala de Depresión de Hamilton (HAM-D).	25
3.8.3 Escala de Depresión de Montgomery-Asberg (MADRS).	25
3.9 Procedimiento	26
3.9.1 Obtención de la muestra	26
3.9.2 Flujograma	27

CAPÍTULO 4..... 28

4.1 Análisis Genético.	28
4.2 Análisis Estadístico	28
4.3 Poder de la muestra	29
4.4 Recursos humanos	29
4.5 Recursos materiales	29

CAPÍTULO 5..... 30

5.1 Consideraciones Éticas.	30
-----------------------------	----

CAPÍTULO 6..... 32

6.1 Resultados.	32
6.1.1 Resultados de Características Sociodemográficas	32
6.1.2 Comparación de frecuencias de genotipo y alelos de casos y controles	33
6.1.3 Asociación entre el alelo de riesgo por genero.	33
6.1.4 Relación de alelo de riesgo y la edad.	34

6.1.5 Relación de alelo de riesgo y gravedad de los síntomas afectivos y ansiosos.____ 35

CAPÍTULO 7.....36

7.1 Discusión _____ 36

7.2 Conclusiones _____ 38

7.3 Referencias _____ 39

CAPÍTULO 8.....46

8.1 Anexos _____ 46

8.1.1 Carta de consentimiento informado _____ 46

8.1.2 Carta de comité de ética _____ 49

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a las Doctoras Beatriz Camarena Medellín, Claudia Becerra Palars y Dení del Carmen Álvarez Icaza González por permitirme ser parte de esta línea de investigación, brindarme la asesoría necesaria durante todo el proceso de la tesis y el apoyo para poder llevarla a cabo. A la Biol. Sandra Hernández Muñoz y al M. en I.B.D. Alejandro Aguilar García, junto con la Dra. Beatriz Camarena Medellín que me brindaron su conocimiento, tiempo, paciencia y ayuda para adentrarme al mundo de la Biología Molecular, permitiéndome explorar y descubrir esta fascinante área. A los doctores Lucia Münch Angüiano, Adriana Cruz Rangel y Adolfo Neri Hernández que durante un poco más de 2 años, compartimos la misma meta, el trabajar con ellos me enseñó lo valioso del trabajo en equipo y que este proyecto me permitió que se volvieran en muy buenos amigos míos.

Agradezco a mis padres por las palabras de aliento, el apoyo incondicional, los regañíos cuando eran necesarios, por brindarme la oportunidad y las herramientas para poder llevar a cabo mis metas. Quiero agradecer a Francisco M. Osorio Garza por su compañía, por estar ahí cuando más lo necesitaba, por su apoyo y su cariño.

Agradezco a los doctores que intervinieron en mi aprendizaje en mi estancia en el Instituto.

Introducción

Trastorno Depresivo Mayor

El Trastorno Depresivo Mayor (TDM) es una enfermedad psiquiátrica asociada a síntomas emocionales, vegetativos y físicos. El TDM presenta una alta prevalencia, la OMS ha estimado que esta enfermedad se convertirá en la segunda causa de discapacidad en el año 2020. Es una enfermedad sub-diagnosticada, porque el reconocimiento puede dificultarse por sus síntomas físicos asociados. El 76% de los pacientes con depresión presentan síntomas físicos dolorosos como cefalea, dolor abdominal, dolor lumbar y dolor difuso¹

El TDM es un problema de salud pública debido a que tiene una morbilidad del 5% en la población mundial. Puede llegar a evolucionar de forma desfavorable teniendo como consecuencias graves como el suicidio. La etiología de la depresión es muy compleja, ya que intervienen factores ambientales, genéticos, biológicos y psicosociales. El diagnóstico del trastorno depresivo mayor se hace por medio de los criterios del DSM IV TR.²

Capítulo 1

1.1 Epidemiología del TDM

La Organización Mundial de la Salud (OMS) el Trastorno depresivo mayor es la cuarta causa de discapacidad a nivel mundial y se proyecta que para el 2020 se volverá la segunda debido al aumento de la prevalencia reportado en las cohortes recientes.³ En el estudio de la OMS que se realizó en 60 países, se observó que la prevalencia de TDM era del 3.2% y el 9.3% y 23% de los participantes contaban con una condición crónica.⁴ Bromet y colaboradores en el 2011, observaron que 18 países de los estudios de la OMS, la prevalencia a lo larga de la vida era de 14.6% y el 11.1% en países con ingresos de leve a moderado, mientras que la prevalencia en 12 meses se estimó en el primer grupo de países en 5.5% y un 5.9% en el segundo grupo.⁵

En la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica se considera que la depresión es una de las diez enfermedades discapacitantes en México. En el Distrito Federal, el 9% de la población adulta entre 18 y 65 años tienen un trastorno afectivo, siendo el 7.8% episodios depresivos mayores, con una tasa de 2.5 mujeres por cada varón. En la Ciudad de México se documentaron que tan solo 20% de personas con un trastorno depresivo mayor buscan algún tipo de atención especializada.⁶

1.2 Neurobiología de la depresión

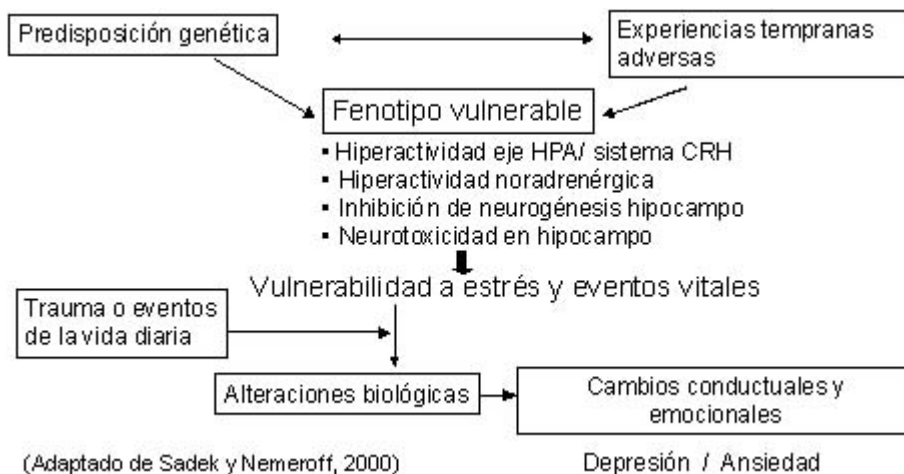
Se ha sugerido que varios neurotransmisores intervienen en el desarrollo de la depresión entre los cuales están las aminas biogénicas (noradrenalina, serotonina, dopamina), el glutamato y acetilcolina, segundos mensajeros, el sistema endocrino y el sistema inmune. Se ha propuesto que dichos neurotransmisores interactúan en sus funciones y que al desequilibrarse alguno de

estos, compromete la estabilidad del resto ocasionando por consecuencia el desarrollo de la depresión.

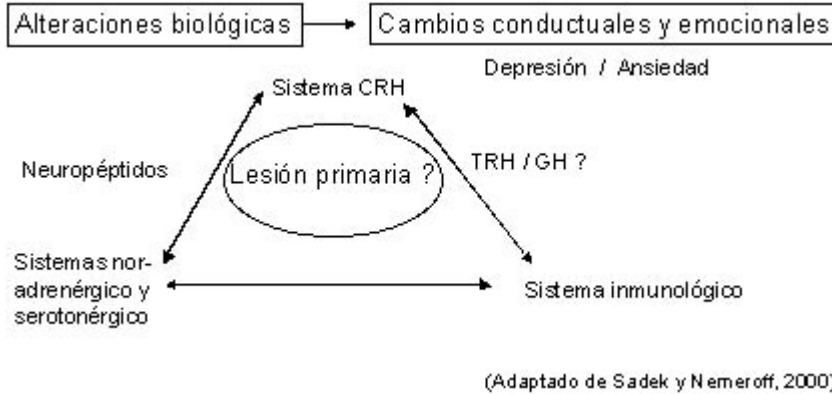
Se han descrito nuevos modelos neurobioquímicos no monoaminérgicos, que podrían jugar un papel importante en la etiología y tratamiento de la depresión. Los nuevos modelos se enfocan en los mecanismos patogénicos que incluyen los factores de estrés ambientales, experiencias adversas tempranas y diátesis genéticas. Un ejemplo de estos modelos es el de la diátesis estrés donde interactúan el sistema nervioso central, el inmune y el endocrino, entre los que se sugiere que se encuentran involucradas la hormona liberadora de corticotropina, la hormona liberadora de tirotrópina y el factor liberador de hormona del crecimiento.⁷ Para poder tener más claro este modelo tenemos que conocer el funcionamiento de estos tres sistemas y cómo interactúan uno con el otro. Las células neurosecretoras del hipotálamo producen hormona liberadora de corticotropina (CRH) y tienen una función en la modulación vías de neurotransmisión. El CRH activa las células que se encuentran en la porción anterior de la hipófisis, permitiendo que se secrete la hormona adrenocorticotrópa (ACTH) en el sistema circulatorio y actúe en la corteza adrenal para que se pueda dar la secreción de corticoesteroides, entre los que se encuentra el cortisol.⁸ Bajo condiciones normales, la secreción de cortisol por la glándula suprarrenal está regulada por un sistema altamente sensible a los cambios del organismo y del medio ambiente. El cortisol tiene feedback a la hipófisis, el hipotálamo y el supratálamo. Un reloj endógeno que se encuentra en los núcleos supraquiasmáticos superpone ciclos circadianos y ultradianos con la CRH, y participa en la secreción de CRH en respuesta a estímulos tanto ambientales (estrés emocional y físico) como endógenos (inflamación, cambios metabólicos, etc)⁹

La hormona liberadora de corticotropina (CRH) se encuentra en amplias zonas de cerebro hipotalámicas y extrahipotalámicas. En respuesta al estrés agudo, esta hormona actúa mediando la respuesta endocrina a través el sistema Hipotálamo-Hipófisis-Suprarrenal (HPA), mediando la

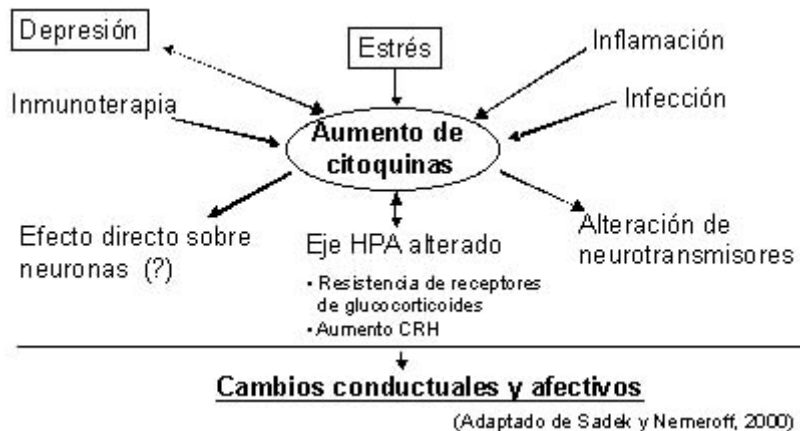
respuesta emocional por la vía de las neuronas de la amígdala. La respuesta cognitiva y conductual está dada por las neuronas corticales activadas por la CRH, la respuesta autonómica, las proyecciones de la amígdala a los núcleos del tronco, principalmente el locus coeruleus. La CRH tiene acciones no solo como factor liberador, sino como neurotransmisor que cumple funciones como un mediador primario de la respuesta endocrina, inmune y conductual del estrés. El estrés en etapas tempranas de la vida causa cambios persistentes en el sistema CRH, creando un estado de hipersensibilidad con un aumento del número de neuronas productoras de CRH e hiperactividad del eje HPA, tanto en reposo como en respuesta al estrés (Figura 1).



Se han propuesto a la hormona liberadora de corticotropina y al sistema noradrenérgico como los principales mediadores de la respuesta al estrés, observándose una hiperactividad de ambos como resultado de las interacciones de factores genéticos y experiencias traumáticas tempranas. Las alteraciones de los sistemas neuroendocrino e inmunológico pueden persistir en la edad adulta, provocando una respuesta excesiva ante el estrés (figura 2). Además de los efectos sobre la serotonina y la noradrenalina, se ha visto una disfunción del sistema dopaminérgico en la depresión como respuesta al estrés.



El estrés, así como la depresión y la inflamación, son capaces de activar el sistema de citocinas, llegando a tener un efecto depresivo de forma directa por medio de la activación del sistema CRH, o indirectamente provocando resistencia a los receptores de glucocorticoides, causando una retroalimentación normal. Las citocinas anti-inflamatorias tienen una acción directa sobre los receptores de las diferentes neuronas distribuidas en el sistema nervioso central, teniendo función como neurotransmisor (Figura 3).¹⁰



1.3 Citocinas y Trastorno Depresivo Mayor

La primera vez que se pensó que el sistema inmune se encontraba relacionado con el TDM, fue cuando se observó que en las personas que cursaban con una enfermedad sistémica o local inflamatoria cursaban con ánimo bajo, irritabilidad, alteraciones cognitivas como era la capacidad de recordar algunos eventos recientes.¹¹ La respuesta en una infección está caracterizada por los cambios endocrinos, autonómicos y del comportamiento, los cuales son disparadores de factores solubles que se producen en el área de infección por la activación de las células inmunes accesorias.¹² Estos mediadores son conocidos como citocinas pro-inflamatorias, que incluyen a la interleucina 1 α y β (IL-1 α e IL-1 β), el factor de necrosis tumoral α (TNF α) e Interleucina-6 (IL-6).¹³ Estos coordinan la respuesta inflamatoria sistémica y local como respuesta patógena microbiológica. Las citocinas tienen una acción tanto a nivel periférico como en el cerebro, lo que causa síntomas afectivos en las personas enfermas. Recientemente se ha acuñado el término “*sickness behaviour*” el cual se utiliza para describir los cambios subjetivos de la experiencia y el comportamiento en las personas que están físicamente enfermas. En los últimos 5 años se ha establecido que las citocinas pro-inflamatorias no solo dan síntomas inflamatorios, si no también se encuentran relacionados con el trastorno depresivo mayor en pacientes físicamente enfermos sin historia previa de trastornos mentales.¹⁴

La asociación de marcadores inflamatorios explica los síntomas depresivos como la fatiga, disfunción cognitiva y las alteraciones en el sueño. Recientemente se ha estudiado que las citocinas del sistema inmune innato pueden influir en los dominios relacionados en la psicopatología de la depresión, como son el metabolismo de los neurotransmisores, funciones

neuroendocrinas, actividad cerebral regional y en el comportamiento.¹⁵ Se han realizado estudios donde se comparan a pacientes con trastorno depresivo mayor contra controles, en los cuales se observó que los pacientes con depresión presentan una elevación de las citocinas inflamatorias y de sus receptores solubles en sangre periférica y en líquido cefalorraquídeo, así como elevación de concentración de proteínas de reacción aguda, quimiocinas, moléculas de adhesión e inmaflamación.^{16,17} Las citocinas pasan por regiones discretas en la barrera hematoencefálica, activa el transporte de moléculas saturables, se activan las células y otro tipo de células que revisten la vasculatura en donde se producen otros mediadores inflamatorios, obligando a los receptores de citocinas asociadas a los nervios aferentes para pasar la señal de citocinas a regiones del cerebro incluyendo el núcleo del tracto solitario y el hipotálamo.¹⁸

Se ha observado que las citocinas tienen un impacto en el eje Hipotálamo- Hipófisis- Suprarrenal.¹⁹ Cuando las citocinas son administradas de forma aguda, se ha demostrado que estimula la expresión y liberación de CRH y ACTH, la cual se ha observado que se encuentra elevada en los pacientes con depresión.²⁰ La activación aguda del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal por el interferón alfa se ha asociado con el desarrollo posterior de la depresión.²¹ La IL-1, IL-6 y factor de necrosis tumoral se ha observado que activa los sistemas serotoninérgicos, aumentando las concentraciones de triptófano en el cerebro y el metabolismo de serotonina aumentando las concentraciones de su catabolito ácido 5-hidroxitriptófano.^{22,23,24}

Además, la Proteína-1 Quimioatrayente de Monocitos, la cual es secretada por los astrocitos y las células endoteliales, se ha reportado como el principal estimulador de la microglía para la producción de IL-1 y de TNF-alfa en respuesta a los lipopolisacáridos. Es importante resaltar que la microglía es la principal fuente de citocinas pro-inflamatorias en el cerebro.¹⁰

1.4 Proteína-1 Quimioatrayente de Monocitos

La Quimiocina (motivo CC) ligando 2 (CCL2,) es una pequeña citocina que pertenece a la familia de quimiocinas CC, también conocida como proteína-1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1).^{25,26} Es un monómero polipéptido de un peso molecular de aproximadamente 13 kDa, que está acoplado a las células endoteliales de las cadenas laterales de glicosaminoglicanos de los proteoglicanos. El MPC-1 es secretado principalmente por monocitos, macrófagos y las células dendríticas. Funciona como un factor de crecimiento derivado de las plaquetas.²⁷

El CCL-2 se encarga de reclutar monocitos, células T de memoria y las células dendríticas, a los sitios de lesión de los tejidos, de infección e inflamación. Estas citocinas se encuentran en actividad quimiotáctica para los monocitos y basófilos, pero no para los neutrófilos o eosinófilos. La eliminación de los residuos N-terminal se convierte en un activador de los basófilos de un quimioatrayente de eosinófilos. CCL2 causa la des-granulación de los basófilos y mastocitos, efecto potenciado por el tratamiento previo con citocinas IL-3 y otros.^{28,29}

La quimiocina CCL2 se expresa también por las neuronas, astrocitos y microglía en el tejido nervioso. La expresión de CCL2 se encuentra principalmente en la corteza cerebral, globo pálido, hipocampo, núcleos paraventricular y supraóptico de hipotálamo, el hipotálamo lateral, la sustancia negra, núcleos facial motor y los núcleos del trigémino espinal, núcleo reticular gigantocelular y las células de Purkinje en el cerebelo.³⁰

La proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1) juega un papel esencial en la modulación de la respuesta de TH1/TH2. Se ha observado que puede llegar a afectar la inmunidad innata y adaptativa por medio de la regulación de monocitos y la respuesta de TH, actuando de manera potencial en la patogénesis inmunológica de la depresión.³¹

En modelos animales se ha encontrado que el MCP-1 actúa como modulador de la actividad neuronal y funciones neuroendocrinas, la expresión del RNA mensajero del MPC-1 y la proteína se han localizado en posiciones neuroanatómicas asociadas con el desarrollo de la depresión, como son la corteza cerebral, hipocampo, núcleo supraóptico y paraventricular del hipotálamo, sustancia nigra y cerebelo. Además la evidencia proviene de la co-localización con los núcleos cerebrales bien definidos, como los colinérgicos, dopaminérgicos, vasopresinérgicos y melatoninérgicos los cuales se han visto involucrados con la sintomatología y el mecanismo terapéutico de la depresión.

El MCP-1 tiene un papel importante en la modulación de otras citocinas, estimula la expresión de la interleucinas 2 del sistema TH2, que se ha reportado alterado en los pacientes con depresión.³²

1.5 Genética del TDM

El trastorno depresivo mayor presenta una prevalencia más elevada en algunas familias, a lo largo de varias generaciones por lo que se asume que los hijos de padres afectados son individuos de alto riesgo para presentar este trastorno. Por lo que se han realizado estudios de familias con trastorno depresivo unipolar, donde ha observado que los familiares de primer grado de los pacientes con este trastorno es del 15%.³² Aunque los estudios en familia nos brinden esta información, tiene el inconveniente de que no controlan el factor ambiental por lo que se han realizado estudios de adopción y en gemelos. En los estudios en gemelos se ha observado que la tasa de concordancia de gemelos monocigóticos es de 30-50%, mientras que la de dicigotos es de

12-40%. La heredabilidad el trastorno depresivo mayor es del 42% en mujeres y 29% en hombres.³³

1.6 Estudios de asociación genética

Los estudios de asociación genética tienen como propósito analizar marcadores genéticos en poblaciones que presentan cierta enfermedad y se compara con individuos no relacionados y que no presentan la enfermedad (estudios de asociación de casos-contróles). El objetivo es identificar alelos de riesgo que se presentan de forma más frecuente en la muestra de casos que en la muestra de controles, proporcionando evidencia de asociación positiva.

Los estudios de “asociación genética” buscan establecer la relación estadística entre variables genéticas poblacionales y un fenotipo determinado. Son utilizados para descubrir el componente genético que subyace a las enfermedades comunes de alta prevalencia como la diabetes mellitus, la enfermedad coronaria o trastornos psiquiátricos. Habitualmente, se utilizan como marcadores genéticos a los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs). Estas variaciones pueden ser funcionales y estar relacionadas a la fisiopatología de la enfermedad, pero en la mayoría de los casos son utilizadas para el mapeo y ubicación de los verdaderos sitios relevantes. Los dos acercamientos posibles son el del “gen candidato” cuando existe evidencia previa de funcionalidad de la variante, o el de “asociación indirecta”.³⁴

1.6.1 Estudios de asociación del gen MCP-1

El gen del MCP-1 se localiza en el cromosoma 17q11.2-q12, región en la que se encuentra localizado el gen transportador de serotonina (SLC6A4), este último también se ha propuesto

como un gen candidato de la depresión.³⁵ Se ha identificado un polimorfismo en el gen MCP-1, caracterizado por el cambio de guanina (G) por adenina (A) en la posición -2518, en la región promotora del gen. Estudios genéticos han asociado a la variante A con un aumento en el riesgo a desarrollar depresión.³¹

En 2005 se realizó un estudio de asociación del gen MCP-1 en pacientes con tuberculosis comparado con controles sanos en población mexicana, en el que se observó que los portadores de los genotipos AG y GG presentaron un OR de 2.3-5.4, por lo que concluyen que los portadores de alelo G producen concentraciones mayores de MCP-1 aumentando la probabilidad de que la infección de *M. tuberculosis* progrese a una tuberculosis pulmonar activa.³⁶

En el 2009 se realizó un estudio en Milán donde se analizó la distribución del polimorfismo A-2815G del gen de MCP-1 en pacientes con degeneración del lóbulo fronto-temporal comparado con 203 controles sanos. Se observó que el alelo G del polimorfismo A-2518G del MCP-1 puede ser un factor protector para la degeneración del lóbulo fronto-temporal esporádico, ya que se sugiere que la respuesta inflamatoria en el líquido cefalorraquídeo promueve una neuroprotección.³⁷

Sin embargo en pacientes con Alzheimer se ha visto que los niveles de MCP-1 se encuentran aumentados en el líquido cefalorraquídeo comparado con controles sanos, sugiriendo que puede tener un papel importante en el desarrollo de la demencia. Recientemente se realizó un estudio con ese mismo polimorfismo del gen para MPC-1, observándose que no es un factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, pero si para la presencia de niveles más altos de MCP-1 que pueden contribuir a un aumento del proceso inflamatorio que ocurre en dicha enfermedad.³⁸ Se ha estudiado también en pacientes con eventos vasculares cerebrales tipo isquémicos donde se tomaron a 194 pacientes y 320 controles sanos, reportándose una asociación

con la portación del alelo G y la susceptibilidad para desarrollar un evento vascular cerebral de tipo isquémico.³⁹

1.6.2 Estudios de asociación entre el polimorfismo A-2815G del gen de MCP-1 en enfermedades psiquiátricas.

Se han realizado estudios de asociación del polimorfismo A-2815G del gen MCP-1 en enfermedades psiquiátricas, en el 2005 Mundo y colaboradores realizo un estudio de asociación genética con este polimorfismo en pacientes con diagnóstico de Esquizofrenia comparados con sujetos control, no encontrando una relación estadísticamente significativa sugiriendo que no tiene un rol mayor en la patogénesis de la enfermedad. Este grupo de investigación encontró que en el grupo de pacientes con resistencia al tratamiento con antipsicóticos, presentaron una mayor frecuencia del alelo G del polimorfismo, por lo que este gen pudiera estar asociado a la respuesta a medicamentos más que a la patogenia de este trastorno.⁴⁰

En el 2007, se realizó un estudio en Korea con 183 pacientes bipolares tipo I y II y 350 controles sanos, no encontrándose asociación con el polimorfismo A-2815G.⁴¹ En un estudio reciente, de casos y controles se compararon a 96 pacientes ambulatorios con trastornos afectivos (trastorno depresivo mayor, trastorno bipolar tipo I y II) contra 161 controles sanos, observándose que los pacientes con trastorno bipolar presentaron una alta frecuencia del genotipo AA y del alelo A, comparado con el grupo control. Además, los pacientes con intentos suicidas reportaron una mayor frecuencia del genotipo AA de este mismo polimorfismo.⁴²

Pae y colaboradores en el 2004, realizaron un estudio de casos y controles con 90 pacientes con trastorno depresivo mayor y 114 controles sanos, los criterios de exclusión eran que tuvieran

alguna enfermedad neurológica, enfermedades endocrinas y autoinmunes. Se encontró que los sujetos con el alelo A presentaron un mayor riesgo para el trastorno depresivo mayor, sugiriéndolo como un importante gen candidato para el trastorno depresivo mayor.³⁵

Capítulo 2

2.1 Justificación

Dada la estrecha relación que existe entre el sistema nervioso central, sistema inmunológico y el sistema endocrino resulta importante analizar genes de proteínas que participan en estos tres sistemas. En particular, se ha observado en los pacientes con trastorno depresivo mayor presentan un aumento de las citocinas pro-inflamatorias en suero, por lo que resulta interesante realizar el análisis de genes de citocinas como posibles marcadores involucrados en el desarrollo de la depresión. Se ha observado en diversos estudios, que existe una elevación del MCP-1 sérico en los pacientes con trastorno depresivo mayor comparado con controles sanos.

Hasta la fecha, se han publicado solo dos estudios entre el trastorno depresivo mayor y el gen MCP-1 en población asiática, reportándose asociación con el alelo A, por lo que resulta interesante analizar dicho polimorfismo en población mexicana, con el propósito de replicar la asociación reportada por estos grupos de investigación en otras poblaciones. Es conocido que las frecuencias alélicas varían entre las diferentes poblaciones, hasta el momento no se ha realizado ningún estudio en población mexicana que explore si existe una asociación entre el alelo A del polimorfismo A-2518G y el trastorno depresivo mayor. El presente estudio podría proporcionar información que ayude a entender de forma más clara la fisiopatología del trastorno depresivo mayor y poder establecer en un futuro un tratamiento más dirigido.

2.2 Hipótesis

Los pacientes mexicanos con trastorno depresivo mayor presentan una mayor frecuencia del alelo A-2518 del gen MCP-1 que los sujetos control.

2.3 Pregunta de investigación

¿Existirá una mayor frecuencia del alelo A-2518 del gen MCP-1 en pacientes con trastorno depresivo mayor comparado con sujetos control?

2.4 Objetivos de la investigación.

2.4.1 Objetivo general

Comparar las frecuencias alélicas del polimorfismo A-2518G de los pacientes mexicanos con trastorno depresivo mayor contra los sujetos control.

2.4.2 Objetivos específicos.

Determinar la frecuencia del alelo A del polimorfismo A-2518G en una muestra de pacientes mexicanos con Trastorno depresivo mayor.

Determinar la frecuencia el alelo A del polimorfismo A-2518 en una muestra de sujetos control.

Determinar si existe asociación entre el alelo A del polimorfismo A-2518G y la gravedad de la sintomatología depresiva en el grupo de pacientes con trastorno depresivo mayor

Capítulo 3

MATERIAL Y METODOS.

3.1 Diseño del estudio.

Se acuerdo a la clasificación de Feinstein el diseño del estudio fue: comparativo, transversal, observacional.⁴³

3.2 Ubicación espacio temporal.

El estudio se llevó a cabo en el servicio de Consulta Externa del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz.

3.3 Población en estudio.

Pacientes con diagnóstico de trastorno depresivo mayor de acuerdo con los criterios diagnósticos del DSM-IV TR. Este estudio formó parte de un proyecto base titulado: “Asociación e interacción de variantes alélicas de los genes GR, MR y MDR1 con la respuesta fluoxetina en pacientes mexicanos con trastorno depresivo mayor”, el cual fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación.

3,4 Sujetos de estudio.

Pacientes:

Se incluyó un total de 113 pacientes, hombres y mujeres con diagnóstico de depresión que aceptaron participar en el estudio.

Sujetos control:

Se analizó una muestra de 202 sujetos control que forman parte del banco de DNA del departamento de genética. Este grupo tuvo una valoración psiquiátrica para descartar cualquier trastorno mental y se aplicó además la escala de tamizaje SCL-90.

3.5 Criterios de selección de pacientes

3.5.1 Criterios de inclusión.

- Pacientes hombres o mujeres admitidos para tratamiento en el servicio de consulta externa del Instituto Nacional de Psiquiatría, con diagnóstico de trastorno depresivo mayor de acuerdo a los criterios diagnósticos establecidos en el del DSM IV-TR.
- Puntaje en el HAM-D basal ≥ 18 puntos.
- Edad 18 a 65 años.
- Pacientes mexicanos, con padre y abuelos nacidos en México.
- Aceptar en forma voluntaria su participación en el estudio.

3.5.2 Criterios de exclusión.

- Comorbilidad con otro diagnóstico en eje I, a excepción de trastorno de ansiedad generalizada, trastorno de angustia, trastorno de ansiedad no especificado, fobia específica y fobia social.
- Pacientes con alto riesgo suicida (≥ 3 Reactivo 3 HAM-D).
- Pacientes con síntomas psicóticos.
- Pacientes que por los hallazgos clínicos o de gabinete ameriten tratamiento conjunto con otros psicofármacos, a excepción de dosis bajas de benzodiazepinas.

- Pacientes que se encuentren en tratamiento con esteroides o con inmunomoduladores.
- Pacientes portadores de hipotiroidismo descontrolado, hepatopatía, insuficiencia renal, enfermedades reumatológicas, enfermedades autoinmunes o epilepsia.
- Embarazo.
- Pacientes femeninas en edad reproductiva, que planeen embarazarse durante el curso del estudio.

3.5.3 Criterios de eliminación.

- A solicitud del paciente.

3.6 Criterios de selección de sujetos control

3.6.1 Criterios de inclusión.

- Pacientes hombres o mujeres mayores de 21 a 65 años
- Que no presenten diagnóstico psiquiátrico, corroborado mediante la aplicación de la Entrevista Diagnóstica de Tamizaje DIS versión en español⁴⁴ y el SCL90⁴⁵.
- Aceptar de forma voluntaria su participación

3.6.2 Criterios de exclusión.

- Que cuenten con algún trastorno psiquiátrico en la Entrevista Diagnóstica de Tamizaje (DIS versión en español)²⁵ o en el SCL-90²⁶.

3.6.3 Criterios de eliminación

- A solicitud del sujeto

3.7 Variables.

Tabla 1- Variables de características sociodemográficas.

Variables independientes	Tipo	Medición
Sexo	Categórica	Femenino/ Masculino
Estado civil	Categórica	Soltero, casado, viudo, unión libre
Escolaridad	Dimensional	Años de estudio
Nivel socioeconómico	Ordinal	Estudio socioeconómico

Tabla 2. Variables de Características Clínicas.

Variables independientes	Tipo	Medición
Episodios depresivos previos	Dicotómica	Si/No
Edad del primer episodio	Dimensional discreta	Años
Número de episodios previos	Dimensional discreta	Número de episodios previos
Antecedente de episodios depresivos con síntomas psicóticos	Dicotómica	Si/No
Puntuación de escala de Hamilton de Depresión	Cuasi-dimensional	Escala de Hamilton de depresión
Puntuación de escala de MADRS	Cuasi-dimensional	Escala de MADRS
Puntuación de escala de Hamilton de Ansiedad	Cuasi-dimensional	Escala de Hamilton de ansiedad
Polimorfismo A-2518G	Dicotómica	Genotipificación

3.8 Clinimetría.

3.8.1 Mini Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional (M.I.N.I.).

Se trata de una entrevista breve estructurada, desarrollada en conjunto por psiquiatras estadounidenses y europeos para trastornos psiquiátricos contemplados dentro del DSM-IV y la CIE-10. Su aplicación lleva alrededor de 15 minutos, y está diseñada para cubrir las necesidades de una entrevista psiquiátrica estructurada breve y certera para la realización de estudios clínicos multicéntricos y de estudios epidemiológicos, así como para ser utilizada como una herramienta de primer contacto en el ámbito clínico.

3.8.2 Escala de Hamilton para depresión (HAM-D).

Este instrumento fue diseñado por Hamilton en 1960 para medir la severidad de los síntomas depresivos en pacientes con enfermedad depresiva primaria. La cuantificación de la severidad de los síntomas depresivos puede ser utilizada para estimar los síntomas antes del tratamiento y medir los efectos del tratamiento sobre los síntomas, o detectar un regreso de los síntomas (recaída o recurrencia). La escala de Hamilton consta de 21 reactivos que son calificados en una escala de 0-4 o 0-2. Hamilton encontró una excelente correlación entre evaluadores de 0.90 en su publicación original.⁴⁶ Un estudio internacional que incluyó a más de 120 pacientes encontró que la consistencia interna medida con el alfa de Cronbach fue de 0.48 antes y 0.85 después de tratamiento.⁴⁷

3.8.3 Escala de Depresión de Montgomery-Asberg (MADRS).

La escala Montgomery-Asberg de depresión fue desarrollada por S. Montgomery y M. Asberg en 1979. Este instrumento fue diseñado con la finalidad específica de ser una herramienta útil para la

valorar la respuesta al tratamiento en los pacientes deprimidos. Originalmente se validó en una muestra de 106 pacientes. Los 10 items que la integran se seleccionaron de la escala de psicopatología CPRS (comprehensive psychopathological rating scale) en función de cuales resultasen más sensibles a la mejoría clínica de los pacientes sometidos a distintos tratamientos. Cada uno de los items se califica sobre una escala del 0 al 6. Los autores refieren una alta confiabilidad para esta escala, así como validez convergente al ser comparada la escala Hamilton de depresión ($r = 0.89 - 0.97$).

Se han llevado a cabo distintos estudios de validación en pacientes deprimidos. Uno de los más recientes reporta que la escala tiene una alta sensibilidad y confiabilidad entre observadores, con un alfa de Cronbach de 0.76.⁴⁸

3.9 Procedimiento

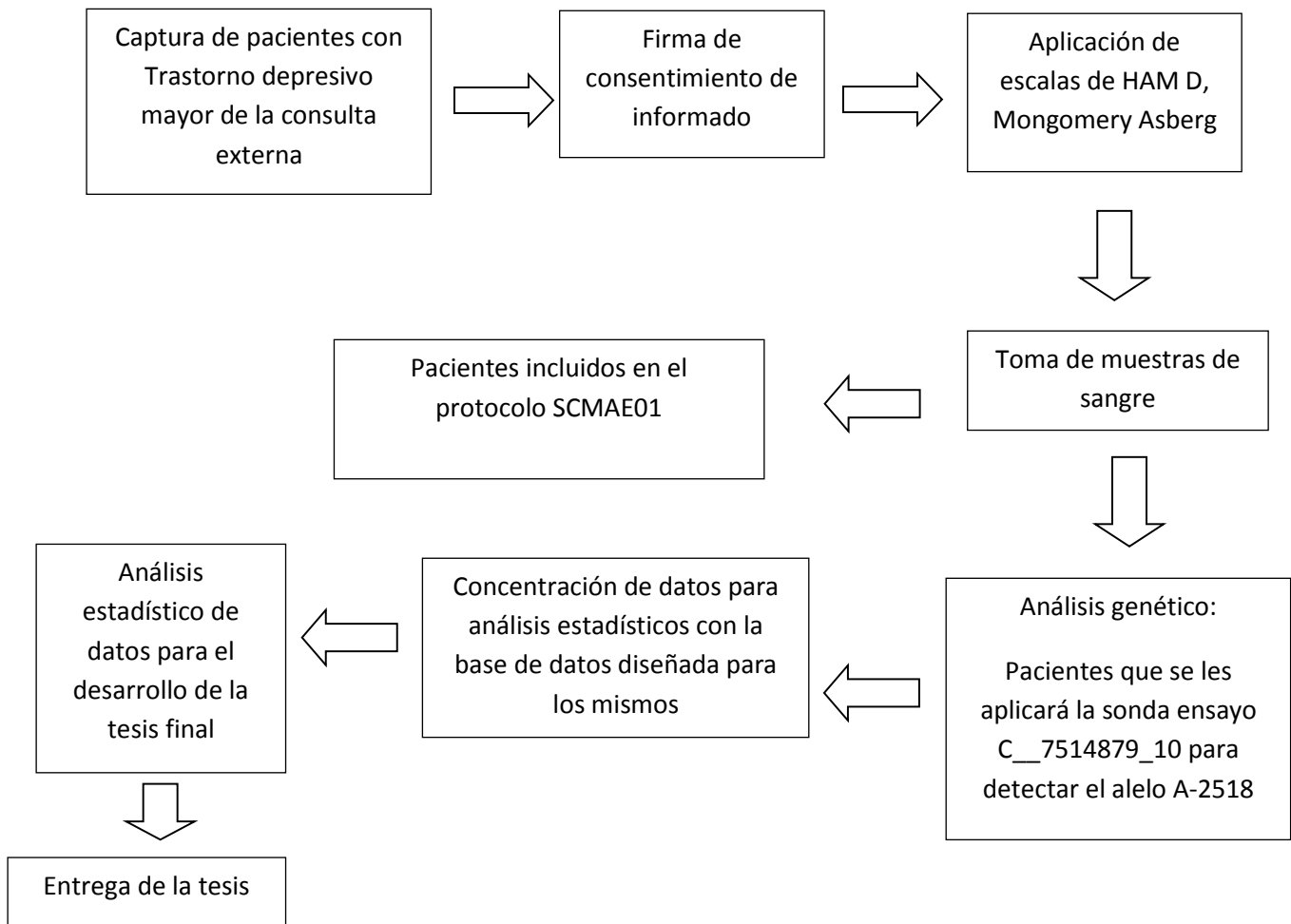
3.9.1 Obtención de la muestra

Este estudio forma parte de un proyecto base titulado: “Asociación e interacción de variantes alélicas de los genes GR, MR y MDR1 con la respuesta fluoxetina en pacientes mexicanos con trastorno depresivo mayor”, el cual fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación (número de proyecto SCMAE01)

Se reclutaron pacientes con diagnóstico de trastorno depresivo mayor que cumplan los criterios de inclusión, provenientes del servicio de consulta externa de la clínica de trastornos afectivos. Posterior a la valoración inicial por parte de su médico tratante, los pacientes fueron invitados a participar en el estudio. Se informó al paciente respecto a los objetivos y procedimientos del estudio y se les entregará al consentimiento informado, incluyendo solo a aquellos pacientes que deseen participar. En forma previa a la inclusión al estudio se corroboró el diagnóstico de

trastorno depresivo mayor y se descartaran otros diagnósticos psiquiátricos mediante la aplicación del MINI. En la primera entrevista también se recolectó información respecto a las variables sociodemográficas (edad, sexo, estado civil). Con la finalidad de facilitar la evaluación inicial de los pacientes se aplicó un tamizaje, en el que incluirán los criterios de inclusión y exclusión, así como preguntas en relación a las características clínicas del trastorno depresivo mayor. En la valoración inicial se aplicaron las escalas de clinimetría MADRS (Montgomery–Asberg Depression Rating Scale) y HAM-D (Hamilton de depresión). Se tomó una muestra de sangre, misma que se utilizará para la realización del estudios genético.

3.9.2 Flujograma



Capítulo 4

4.1 Análisis Genético.

1- Extracción de ADN genómico de los pacientes con Trastorno depresivo mayor.

Se obtuvo el ADN mediante el uso del kit de extracción Genomic DNA purification de Fermentas a partir de 5 ml de sangre periférica.

2- El DNA genómico de la muestra control fue obtenido mediante el método de Lahiri⁴⁸ y se almacenó a 4°C en un buffer TE en el Departamento de Genética.

3- Análisis del polimorfismo A-2518G (rs1024611) del gen CCL2.

La genotipificación de la región se realizó mediante el método de discriminación alélica con sondas TaqMan. El volumen final de la reacción será de 5 ml y contuvo las siguientes condiciones de reacción: 20 ng of genomic DNA, 2.5 µL de TaqMan Master Mix, y 0.125 µL de 20x de las sondas "Assay made to order", ensayo C__7514879_10. La amplificación se llevó a cabo con el equipo 7500 real time PCR system with SDS v2.1 software (Applied Biosystems). El análisis mediante discriminación alélica se llevó a cabo mediante la identificación estandarizada de cada uno de los genotipos para cada región analizada.

4.2 Análisis estadístico

Para la descripción de características clínicas y demográficas entre grupos diagnósticos, se utilizaron frecuencias y porcentajes para las variables categóricas, medias y desviación estándar para las variables continuas. Se comparó la gravedad de la sintomatología por medio de ANOVAs dividiendo la muestra por portación o no del alelo de riesgo.

Como pruebas de hipótesis en la comparación de los distintos grupos se utilizó la Chi Cuadrada (X^2) para contrastes categóricos y la t de Student para contrastes continuos. Los genotipos de los grupos de TDM y sujetos controles fueron analizados mediante la prueba de X^2 en las tablas de contingencias de 2x2 y 2x3, utilizando el programa estadístico Tadpole versión 1.2. La gravedad de la sintomatología se analizó dividiendo la muestra mediante la portación del alelo A de riesgo.

4.3 Poder de la muestra

El cálculo del poder de la muestra de 150 pacientes fue realizado (cálculo del tamaño de la muestra) con el programa Quanto indicando un poder del 98% (alfa=0.05) bajo un modelo de herencia aditivo y con una prevalencia de la enfermedad del 2% en población mexicana y con una frecuencia del alelo de riesgo del 0.42.

4.4 Recursos humanos.

Médico residente, asesor teórico y metodológico, personal de laboratorio.

4.5 Recursos Materiales.

Los estudios genéticos no tuvieron costo para el paciente, el marcador genético, sustancias y material de laboratorio fueron proporcionados por la Doctora Beatriz Camarena Medellín.

Capítulo 5

5.1 Consideraciones Éticas.

El estudio fue de riesgo mínimo, que acorde con el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud incluye: estudios prospectivos que emplean procedimientos comunes en exámenes físicos o psicológicos de diagnósticos o tratamiento rutinarios, entre los que se consideran: pesar al sujeto, pruebas de agudeza auditiva; electrocardiograma, termografía, colección de excretas y secreciones externas, obtención de placenta durante el parto, colección de líquido amniótico al romperse las membranas, obtención de saliva, dientes deciduales y dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica, placa dental y cálculos removidos por procedimiento profilácticos no invasores, corte de pelo y uñas sin causar desfiguración, extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 ml. en dos meses, excepto durante el embarazo, ejercicio moderado en voluntarios sanos, pruebas psicológicas a individuos o grupos en los que no se manipulará la conducta del sujeto, investigación con medicamentos de uso común, amplio margen terapéutico, autorizados para su venta, empleando las indicaciones, dosis y vías de administración establecidas.

Para el presente estudio se tomó muestras de sangre venosa. La posibilidad de complicaciones relacionadas a este procedimiento es mínima, e incluye perforación de la vena, e infección del sitio de la punción.

Antes del ingreso a este proyecto de investigación el paciente leyó y discutió con el investigador clínico el documento de consentimiento informado. Este documento fue firmado, haciéndoles entrega de una copia, en tanto que una copia adicional fue anexada al expediente clínico. Durante

toda la investigación se omitieron en las bases de datos los nombres de los pacientes, estos fueron asignados a un código secuencial para los análisis estadísticos. El material genético de aquellos pacientes que por cualquier razón fueron excluidos del protocolo fue destruido.

Los pacientes se pudieron retirar en cualquier momento del transcurso de la investigación sin que esto causara un perjuicio en su atención médica psiquiátrica en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz para su atención.

Capítulo 6

6.1 Resultados

6.1.1 Resultados de Características sociodemográficas

La muestra consistió en 113 pacientes con Trastorno depresivo mayor de la Consulta Externa del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”. En la tabla 1 se muestra las características sociodemográficas de los pacientes que fueron recolectados para el estudio.

Tabla1. Características sociodemográficas de los sujetos.

Solteros	47 (41.6%)
Casados	47 (41.6%)
Unión libre	3 (2.6%)
Viudo	3 (2.6%)
Separado/Divorciado	13 (11.5%)
Hogar	39 (34.5%)
Estudiante	12 (10.6%)
Desempleado	27 (23.9%)
Empleado remunerado	33 (29.2%)
Ninguno	2 (1.7%)
Hombres	31 (27.4%)
Mujeres	82 (72.5%)
Edad (Prom±DS)	34.80(±11.66)
Escolaridad (Prom±DS)	10.12(±2.97)

6.1.2 Comparación de frecuencias de genotipo y alelos de casos y controles

En la tabla 2 se muestran la frecuencia de genotipos y alelos para el polimorfismo A-2815G del gen MCP1, tanto en los casos como en los controles. Se encontró que el genotipo AA se presentó con mayor frecuencia en los casos comparado con los controles. Del mismo modo, se observó una mayor frecuencia del alelo A en los pacientes con trastorno depresivo mayor comparado con los controles.

Tabla 2. Frecuencia de Genotipos y Alelos del polimorfismo A-2815G del gen de MCP1

	Frecuencia de Genotipos			Frecuencia de alelos		
	n	AA	AG	GG	A	G
Casos	113	53 (0.47)	48 (0.42)	12 (0.10)	160 (0.69)	72 (0.31)
Controles	202	46 (0.23)	94 (0.46)	62 (0.31)	186 (0.46)	218 (0.54)
	$\chi^2=26.59$ gl=2 p=0.0000			$\chi^2=31.82$ gl=1 p=0.0000		

EH-W Casos: $\chi^2=0.053$ gl=1 p=0.818

EH-W Controles: $\chi^2=0.81$ gl=1 p=0.367

6.1.3 Asociación entre el alelo de riesgo por género

En la tabla 3 se muestran los genotipos agrupados en aquellos que presentan el alelo de riesgo comparados con los que no, para poder conocer si existe una relación por género entre los pacientes con TDM. No se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos.

Tabla 3. Relación del alelo de riesgo y sexo

		AA+AG	GG
Hombres	n=31	28(0.9)	3(0.1)
Mujeres	n=80	70(0.87)	10 (0.13)
$\chi^2= 0.007$ gl=1 p=0.93			

6.1.4 Relación de alelo de riesgo y la edad

En la tabla 4 se muestran características de los pacientes según la edad de inicio del padecimiento actual, tiempo de evolución de este, edad de presentación del primer episodio y número de episodios depresivos previos. Se dividieron en los que portaban el alelo de riesgo y aquellos que no lo portaban, donde no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los grupos.

Tabla 4. Relación de la variable edad y el alelo de riesgo.

	AA +AG	GG	T student	Valor de p
Edad de inicio del PA	33.94 (± 10.36)	38.58 (± 10.99)	T=-1.48	p=0.14
Tiempo de padecimiento	29.5 (± 35.92)	23.66(± 28.11)	T=0.55	p=0.59
Edad del primer EDM	18.33 (± 11.87)	21.08 (± 10.15)	T=-0.76	p=0.45
No. EDM previos	2.45 (± 3.89)	1.83 (± 1.69)	T=0.58	P=0.56
No. Total de EDM	3.22 (± 3.77)	2.83 (± 1.69)	T=0.37	P=0.71
*gl=111				

6.1.5 Relación de alelo de riesgo y gravedad de los síntomas afectivos y ansiosos

En la tabla 5 se muestran las escalas de gravedad tanto para los síntomas afectivos como los ansiosos, agrupados entre aquellos que portaban el alelo de riesgo y los que no. Se observó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre la gravedad de los síntomas y ser portador del alelo de riesgo.

Tabla 5. Relación de alelo de riesgo y gravedad de los síntomas afectivos y ansiosos

	AA+AG	GG	T student	Valor de p
HAM-D	25.45 (\pm 4.9)	26.12 (\pm 5.02)	T=-0.47	P=0.64
HAM-A	25.47 (\pm 6.13)	25.75 (\pm 6.12)	T=-0.16	P=0.87
MADRS	31.85 (\pm 5.81)	33 (\pm 3.69)	T=-0.70	P=0.49
*gl=111				

Capítulo 7

7.1 Discusión

En los últimos años se ha propuesto que las citosinas proinflamatorias juegan un papel importante en el Trastorno depresivo mayor. Smith y colaboradores en el 1991 son los primeros en proponer la teoría de los macrófagos en la depresión, de acuerdo a esta teoría existe una producción excesiva de los mediadores inflamatorios donde los macrófagos juegan un papel importante en la depresión. Maes y colaboradores en 1997 realizaron un estudio donde observaron una activación del sistema inmune innato en pacientes con depresión, donde se reportó un aumento de la interleucina 6. Se han realizado diversos estudios, en los cuales se reporta una elevación de los niveles séricos de citocinas proinflamatorias en los pacientes con trastorno depresivo mayor.

El MCP-1 juega un papel importante en la modulación de la respuesta inmune tanto innata como adquirida, por lo que este se encontraría involucrado de forma importante en el desarrollo del Trastorno depresivo mayor. El gen del MCP-1 se localiza en el cromosoma 17q11.2-q12, región en la que se encuentra localizado el gen transportador de serotonina, lo que hace pensar que pudiera tener una relación directa con la fisiopatología del Trastorno depresivo mayor.

Pae y colaboradores en el 2004 realizaron un estudio en un grupo de 90 pacientes con trastorno depresivo mayor comparados con 114 controles sanos en una población coreana, en los cuales se estudió el polimorfismo A-2518G del gen del MCP-1, donde se observó el alelo A del gen como de riesgo para los pacientes con trastorno depresivo mayor. Posteriormente ese mismo grupo realizó estudios en pacientes con Trastorno bipolar y Esquizofrenia donde no se tuvieron resultados estadísticamente significativos con ninguno de los alelos del polimorfismo.

Altamura y colaboradores en el 2007 realizaron un estudio con 68 pacientes italianos, 25 con trastorno depresivo mayor, 22 con trastorno bipolar tipo I y 21 con trastorno bipolar tipo II,

encontrando una asociación estadísticamente significativa del alelo A-2518 del gen MCP1 y los pacientes con Trastorno depresivo mayor. En el 2010 este mismo grupo de investigación reporta que los pacientes con Trastorno bipolar presentaron una mayor frecuencia del alelo A, ambos resultados resultan opuestos a los obtenidos por el grupo de Pae. Es importante considerar que en el estudio de Altamura y colaboradores el tamaño pequeño de la muestra de los pacientes para un estudio de asociación genética, por lo que hay que tomar estos hallazgos con cautela.

El objetivo de este estudio fue el conocer la frecuencia de los alelos del polimorfismo A-2518G en pacientes con Trastorno depresivo mayor comparado con controles sanos. Entre los resultados obtenidos se observó una relación de 2.5 mujeres con depresión por un hombre, como se reporta en la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México del 2003.⁶

Se encontró una mayor frecuencia del alelo A del polimorfismo del gen de MCP 1 en los pacientes con TDM en comparación con los controles sanos, como fue reportado por Pae y colaboradores en población coreana. Lo anterior podría estar indicando que el alelo A-2518 del gen MCP1 es un alelo de riesgo para la presentación del Trastorno depresivo mayor, es importante destacar que existen pocos estudios los cuales hayan analizado esta asociación y los existentes muestran resultados opuestos. Al analizar las variables de edad de inicio del padecimiento actual, tiempo de evolución del padecimiento actual y edad de inicio del primer episodio depresivo, no se encontró asociación estadísticamente significativa, lo cual nos hace pensar que el ser portador del alelo de riesgo no tiene asociación con la edad de presentación ni con la duración de los episodios depresivos. Se analizaron las puntuaciones en las escalas de Hamilton tanto las de ansiedad como las de depresión, así como la escala de depresión de Montgomery-Asberg no se encontró asociación con la gravedad de la sintomatología, por lo cual el ser portador del alelo de riesgo pareciera no tener relación con la gravedad de la sintomatología.

Se analizaron los pacientes por sexo y por portación del alelo de riesgo sin encontrar asociación estadísticamente significativa. En los estudios realizados previamente no se reporta asociación con las características clínicas y alguno de los alelos del polimorfismo. Estos hallazgos nos hacen pensar que el gen no se encuentra asociado con ninguna de estas variables clínicas, y donde son consistentes los hallazgos es en los pacientes con Trastorno depresivo mayor que son portadores del alelo A-2518 del gen MCP-1 a comparación de los controles sanos.

Hasta la fecha no existen estudios como el nuestro realizados en población mexicana, resultaría interesante el investigar la asociación de este polimorfismo con pacientes que presenten Trastorno bipolar I y II, así como en pacientes con Esquizofrenia.

El replicar los hallazgos obtenidos en diferentes poblaciones como la asiática y la europea, hace pensar que el gen está relacionado con la etiología del Trastorno Depresivo Mayor, pudiendo ser un marcador genético para este. Da evidencia de la relación tan cercana que tiene el Sistema Inmune con el Sistema Nervioso Central, por lo que alteraciones en la inmunidad pudieran desencadenar o exacerbar la sintomatología afectiva, y que el incidir en el Sistema Inmune pudiera ayudar a la mejoría del Trastorno Depresivo mayor.

7.2 Conclusiones

1. El alelo A del polimorfismo A-2518G del gen MCP-1 es un alelo de riesgo para la presentación del Trastorno depresivo mayor.
2. El polimorfismo A-2518G del gen MCP-1 no se encuentra relacionado con las características clínicas del Trastorno depresivo mayor.

7.3 Referencias

1. Ruiz G, Colín R, Corlay I, Lara C, Dueñas H. Trastorno depresivo Mayor en México: La relación entre la intensidad de la depresión, los síntomas físicos, dolorosos y calidad de vida. *Salud Mental* 2007; 30: 25-32
2. DSM IV-TR
3. Murray C, López A. *The Global Burden of Disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries and risk factors in 1990 and projected to 2020*. Harvard University Press 1996
4. Moussavi S, Chatterji S, Verdes E, et al. Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. *Lancet* 2007; 370:851-858.
5. Bromet E, Andrade LH, Hwang I, et al. Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. *BMC Med* 2011;9:90.
6. Medina-Mora M, Borges G, Lara C, Benjes C, Blanco J, Fleiz C, Villatoro J, Rojas E, Zambrano J, Casanova L, Aguilar-Gaxiola S. Prevalencia de Trastornos Mentales y uso de servicios: Resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México. *Salud Mental* 2003; 26: 1-16.
7. Krieger DT. *Rhythms in CRF, ACTH and corticosteroids, in endocrine Rhythms*. Edited by Krieger DT. New York, Raven, 1979

8. Guillemin R, Vargo T, Rossier J. Beta- endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland. *Science* 1977; 197: 1367-1369
9. Miller A, Maletic V, Raison C. Inflammation and its discontents: The Role of Cytokines in the Pathophysiology of Major Depression. *Biol Psychiatry* 2009;65:732-741.
10. Gotlib I, Joormann J, Minor K, Hallmayer J. Reactividad del eje hipotálamo-hipofisario-adrenocortical: Un mecanismo que es la base de las asociaciones entre 5-HTTLPR, estrés y depresión. *Psiquiatría Biológica* 2010;17:6-11
11. Loftis J, Huckans M, Morasco B. Neuroimmune mechanisms of cytokine-induced depression: Current theories and novel treatment strategies. *Neurobiology of Disease* 2010. 37:519-533
12. Maes M. Cytokines in major depression. *Biological Psychiatry* 1994.36;7:498-499.
13. Weizman R, Laor N, Podliszewski E, et al. Cytokine production in major depressed patients before and after clomipramine treatment. *Biological Psychiatry* 1994. 35;1:42-47.
14. Dantzer R. Cytokine, Sickness Behavior, and Depression. *Immunol Allergy Clin N Am* 2009;29:247-254

15. Dantzer R., O'Connor J., Freund g., Johnson R., Kelly K. From inflammation of sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Rev. Neurosci* 2008; 9: 46-57
16. Zorilla E, Luborsky L, McKay J, Roesenthal R Houldin A, Tax A, et al. The relationship of depression and stressors to immunological assays: A meta-analytic review. *Brain Behav Immun* 2001. 15:199-226.
17. Raison C, Capuron L, Miller A. Cytokines sing the blues: Inflammation and the pathogenesis of major depression. *Trend Immunol* 2006. 27:24-31.
18. Quan N, Banks W. Brain-immune communication pathways. *Brain Behav Immun* 2007. 21:727-735.
19. Besedovsky H, Del Rey A. Immune-neuro-endocrine interactions: Facts and hypotheses. *Endocr Rev* 1996.17:64-102.
20. Pariante C, Miller A. Glucocorticoid receptors in major depression: Relevance to pathophysiology and treatment. *Biol Psychiatry*. 2001;49:391-404.
21. Capuron L, Raison C, Musselman D, Lawson D, Nemeroff C, Miller A. Association of exaggerated HPA axis response to the initial injection of interferón-alfa with development of depression during interferon-alfa therapy. *Am J Psychiatry* 2003; 160:1342-1345

22. Dunn A, Ader R, Felten D, Cohen N et al. Effects of cytokines and infections on brain neurochemistry. Academic Press 2001; 649-666.
23. Zalcman S, Green- Johnson J, Murray L, Nance D, Dyck D, Anisman H, Green berg A. Cytokine-specific central monoamine alterations induced by interleukin-1,2 and -6. Brain Res 1994; 643: 40-49.
24. Clement H, Buschmann J, Rex S, Grote C, Opper C, Gemsa D, Wesemann W. Effects of interferon- γ , interleukin-1 β , and tumor necrosis factor- α on the serotonin metabolism in the nucleus raphe dorsalis of the rat. J Neural Transm 1997;104:981-991
25. Carr M, Roth S, Luthet E, Rosa S., Spinger T. Monocyte chemoattractant protein 1 acts as T-lymphocyte chemoattractant. Proc Natl Acad Sci 1994;91:3652-3656
26. Xu L, Warren M, Rose W, Gong W, Wang J. Human recombinant monocyte chemotactic protein and other C-C chemokines bind and induce directional migration of dendritic cells in vitro. J Leukoc Biol 1996;60:365-371
27. Craig M, Loberg R. CCL 2 (Monocyte Chemoattractant Protein 1) in cancer bone metastasis. Cancer Metastasis Rev 2006; 25:611-619
28. Conti P, Boucher W, Letourneau R, Feliciani C, Reale M, Barbecane R, Vlagopoulos P, Bruneau G, Thibault, Theoharides T. Monocytes Chemotactic protein-1 provokes mast cell aggregation and 5HT release. Immunology 1995;86: 434-440

29. Bischoff S, Krieger M, Brunner T, Dahinder C. Monocyte chemotactic protein 1 is a potent activator of human basophils. *J Exp Med* 1992;175:1271-1275.
30. Kim M, Day C, Morison N. MCP-1 induce by receptor activator of Nuclear factor kappa B ligand promotes human osteoclast fusion and receives granulocytes macrophage colony stimulating factor suppression of osteoclast formation. *J Biol Chem* 2005;280:16163-16169.
31. Banisadr G, Gosselin R, Mechighel P, Kitabgi P, Rostene W, Parsadaniantz S. Highly regionalized neuronal expression of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1/CCL2) in rat brain: evidence for its colocalization with neurotransmitters and neuropeptides. *J Comp Neurol* 2005;439:275-292.
32. Gershon ES, Hamovit J, Guroff JJ, Dibble E, Leckman JF, Sceery W, et al. A family study of schizoaffective, bipolar I, bipolar II, unipolar, and normal control probands. *Arch Gen Psychiatry* 1982;39:1157-1167.
33. Kendler K, Gardner C. Monozygotic twins discordant for major depression: a preliminary exploration of the role of environmental experiences in the aetiology and course of illness. *Psychol Med* 2001; 31:411-423)
34. Sevilla, S. Metodología de los estudios de asociación en genética. *Rev Insuf Cardiac* 2007;3:111-114
35. Pae C, Yu H, Kim T, Lee C, Lee S, Jun T, Lee C, Serrati A, Paik I. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) promoter -2518 polymorphism may confer a susceptibility to major depressive disorder in Korean population. *Psychiatry Research* 2004; 127: 279-281

36. Flores-Villanueva P, Ruiz-Morales J, Song C, Flores L, Jo E, Montaña M, Barnes P, Selman M, Granados J. A functional promoter polymorphism in monocyte chemoattractant protein-1 is associated with increased susceptibility to pulmonary tuberculosis. *J Exp Med* 2005; 202:1649-1658
37. Galimberti D, Venturelli E, Villa L, Fenoglio C, Clerici F, Maroone A, Bunussi L, Cortini F. MCP-1 A-2518G polymorphism: Effect on susceptibility for frontotemporal lobar degeneration and on cerebrospinal fluid MPC-1 levels. *J Alzheimers Dis* 2009;17:125-133
38. Fenoglio C, Calimberti D, Levati C, Guidi L, Gatti A, Fogliarino S, Tiriticco M, Mariani C, Forioni G. MCP-1 in Alzheimer's disease patients: A-2518G polymorphism and serum levels. *Neurobiol Aging* 2004; 25: 1169-73
39. Buraczynska K, Luchonoki P, Wojczal J, Ksiazek A, Stelmasiak Z. Monocyte Chemoattractant protein (MCP-1) A-2518G gene polymorphism in stroke patients with different comorbidities. *Clin Biochem* 2010;43:1421-1426
40. Mundo E, Altamura A, Vismara J, Zanardin R, Bignotti S, Montesor C, Gennarelli M. MCP-1 gene (SCYA2) and schizophrenia: a case control association study. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005; 132B:1-4
41. Myoung-Sun R, Kyu L, Eun-Jeong J, Nemyoung L, Young S. No association of MCP-1 promoter A-2518G with bipolar disorder in Korean population. *Neulet* 2007;427:1-5
42. Altamura A, Mundo E, Cattaneo E, Pozzoli S, Delloso B, et al. The MCP-1 gene (SCYA2) and mood disorders: preliminary results of case-control association study. *Neuroimmunomodulation* 2010. 17:126-131.

43. Feinstein A. Clinical Epidemiology, The Architecture of Clinical Research. W.B. Saunders Company. United States of America. 1985;12-21.
44. Caraveo J, González C, Ramos L. Current validity of the DIS experience with psychiatric patients in México city. *Hispanic J Behav Sci* 1991;13: 63-67
45. Derogatis L, Lipman R, Covi L, et al. SCL-90: on outpatient psychiatry rating scale-preliminary report. *Psychopharmacol Bull* 1973;9:13-28
46. Hamilton, M. *A rating scale for depression*. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 1960; 23: 56-62.
47. Gastpar, M., *The Hamilton Depression Rating Scale in a WHO collaborative program*. *Psychopharmacology Series* 1990; 9: 10-9.
48. Montgomery, S.A. and M. Asberg, *A new depression scale designed to be sensitive to change*. *British Journal of Psychiatry* 1979; 134:384-389.
49. Lahiri D, Nurnberger J. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Biol Psychiatry* 1991; 45:1178-1189

Capítulo 8

8.1 Anexos

8.1.1 Carta de consentimiento informado

Título de la investigación:

ASOCIACIÓN E INTERACCIÓN DE VARIANTES ALÉLICAS DE LOS GENES GR, MR y MDR1 CON LA RESPUESTA FLUOXETINA EN PACIENTES MEXICANOS CON TRASTORNO DEPRESIVO MAYOR

CARTA DE CONSENTIMIENTO PARA EL PACIENTE

El trastorno depresivo mayor es un padecimiento muy frecuente desconociéndose hasta la fecha, las causas de esta enfermedad. Estudios realizados en familias muestran que existen causas genéticas que originan esta enfermedad; sin embargo, hasta la fecha no se sabe cuántos y cuáles son éstos genes. De la misma manera, la respuesta favorable a los medicamentos está relacionada con el tipo de genes que cada individuo tiene, de tal manera que identificar los genes asociados con la eficacia a un determinado tratamiento, podrá ayudar en un futuro a que los pacientes reciban el tratamiento farmacológico más adecuado y con menos efectos no deseados (efectos colaterales).

Se le invita a participar en este estudio debido a que durante la valoración psiquiátrica se le diagnosticó trastorno depresivo mayor y como parte del tratamiento habitual de esta enfermedad recibirá como tratamiento Fluoxetina.

El presente estudio, tiene como objetivo analizar un gen que pudieran estar asociado con el desarrollo de la enfermedad que padece y/o con la respuesta al medicamento que recibirá (fluoxetina). Aunque los antidepresivos, como la fluoxetina, pueden ser un tratamiento efectivo para los pacientes con trastorno depresivo mayor, algunos de los pacientes no responden a estos medicamentos. Los datos derivados de este estudio no impactarán en forma directa el resultado del tratamiento que usted recibe, sin embargo pueden proporcionar información de utilidad para que en forma futura se conozcan algunos de los factores genéticos involucrados en la respuesta a fluoxetina. Si durante el curso de las valoraciones o al final del estudio los investigadores participantes detectan que el resultado de su tratamiento con fluoxetina no es el óptimo se comunicará esta información a su médico tratante en la consulta externa, de forma que se le pueda ofrecer otra alternativa de tratamiento antidepresivo. De tal manera que su participación consistirá en proporcionar una muestra de sangre para el análisis genético y un seguimiento de 8 semanas, con el propósito de observar su respuesta al tratamiento que está recibiendo.

¿De qué forma participaré?

Proporcionaré una muestra de sangre de aproximadamente 5 ml por medio de un piquete en mi antebrazo, la cual contiene células de donde extraerán mi ADN. Además se me realizarán cuatro valoraciones, una antes de iniciar el tratamiento con fluoxetina y 3 más en un periodo de dos meses. En estas entrevistas se me aplicaran algunos cuestionarios, para determinar la respuesta al tratamiento con fluoxetina. En la segunda y tercera de estas entrevistas se me tomará una segunda muestra de sangre, con la finalidad de determinar los niveles de fluoxetina en mi sangre.

¿Cuáles son los riesgos del procedimiento?

El riesgo que tiene al ser tomadas las muestras de sangre, es el de un leve dolor agudo y pasajero por el piquete y en raras ocasiones un pequeño moretón que sana en cuestión de días. Se me asegura además que los utensilios empleados para la toma de la sangre son nuevos y estériles. La fluoxetina es un fármaco aprobado para su uso en el tratamiento de los pacientes con trastorno depresivo mayor. Su empleo se puede relacionar con molestias menores como náusea, mareo y cefalea.

¿Cuáles son sus derechos como participante?

Mi participación en el estudio es voluntaria y en el caso de que no desee participar no afectará negativamente de ninguna manera la calidad de la atención médica que recibo en esta institución. Mi participación no tiene ningún beneficio directo para mí, sin embargo, contribuirá en el estudio de los genes asociados a la depresión.

¿Su participación en el estudio implica algún gasto adicional?

Las 4 citas que incluye el protocolo no tendrán costo para mí. Como parte del estudio se me proporcionará el medicamento. Las citas extra en el servicio de consulta externa y los estudios de rutina solicitados por mi médico tratante correrán a mi cargo.

CONFIDENCIALIDAD:

Mi identidad no será revelada en ninguna referencia del estudio o en sus resultados. Además, para salvaguardar mi anonimato, a mis datos y muestras se me asignará un código numérico, de tal manera que será imposible mi identificación, sólo el investigador responsable tendrá acceso al identificador correspondiente. La información que brinde al Investigador en ningún momento será comunicada a otra persona ajena a este estudio.

Contacto:

Si tiene alguna pregunta, puede contactar a la investigadora: Dra. Lucía Münch Anguiano al tel. 5552172302.

Consentimiento y firmas:

He hablado directamente con el investigador clínico responsable y este ha contestado todas mis preguntas en términos que he podido entender. Además, entiendo que en cualquier momento puedo consultarlo para aclarar dudas que me pudieran surgir durante el transcurso del estudio.

Entiendo que es mi derecho el tomar la decisión de suspender en cualquier momento mi participación en el estudio, sin que esto tenga consecuencias en mi cuidado médico dentro de esta Institución. Soy libre de abandonar el estudio en cualquier momento que lo desee, sin que se vea afectada la atención médica que recibo en esta institución. Asimismo, mi muestra de ADN podrá ser destruida en el momento en que yo lo solicite. La custodia de este material estará a cargo de la M. en C. Beatriz Camarena en el departamento de Genética de esta Institución.

Recibo una copia de este formato de consentimiento informado.

Estoy de acuerdo en que el material genético sea almacenado para investigaciones futuras relacionadas con mi padecimiento.

Nombre y firma del Paciente.

Fecha

Nombre y firma del investigador.

Fecha

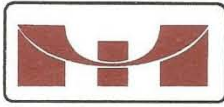
Nombre y firma del Testigo 1.

Fecha

Nombre y firma del Testigo 2.

Fecha

8.1.2 Carta de Comité de Ética en Investigación



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

INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRIA RAMON DE LA FUENTE MUÑIZ

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

"2012, Año de la Cultura Maya"

Comité de Ética en Investigación

Julio 2, 2012.

Dra. Adriana Harumi Hirata Hernández
Investigador Principal
P r e s e n t e

Estimada doctora:

Por medio de la presente me permito informarle que el *Addendum* del proyecto titulado: "Estudio de asociación entre el polimorfismo A2518G del gen MCP-1 y el trastorno depresivo mayor en una muestra de pacientes mexicanos contra sujetos control", ha sido **APROBADO** por el Comité, ya que se considera que cumple con los requerimientos éticos y metodológicos establecidos.

Atentamente,

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



C.c.p. Dr. Héctor Senties Castellá, Director de Enseñanza y Presidente del Comité de Tesis.-Presente.
Dr. Carlos Berlanga Cisneros, Subdirector de Investigaciones Clínicas y Secretario Técnico del Comité de Investigación Científica.-Presente.