

Facultad de Medicina



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina

Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente”

Proyecto de Investigación:

Estudio de Asociación del Polimorfismo *Val66Met* del Factor de Crecimiento Derivado del Cerebro (BDNF) y el Desarrollo de Conducta Adictiva a Cocaína en Comorbilidad con Trastorno Depresivo Mayor

Alumno: Dr. Edén Cristian Sánchez Rosas

Tutores: Dr. Josué Alberto Vásquez Medina, Dr. Juan Jorge Palacios Casados, Dr. Carlos Sabás Cruz Fuentes

Clínica de Genética Psiquiátrica

Clínica de Trastornos Adictivos

Departamento de Biología Molecular Psiquiátrica

México, D.F. a 26 de Abril de 2011



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.

Agradecimientos

...a mi novia (Adriana),

...a mi familia (mi madre Bertha y hermano Hiram),

...a mis tutores (Dr. Josué Vásquez, Dr. Jorge Palacios y Dr. Carlos Cruz),

...a mis maestros (Dr. Ricardo Nanni y Dr. Hugo González),

...a mis amigos (Chuy, Iván, Jasso, Bush, Sol, Iza y Joaquín),

...a los lups (José Miguel, Jorge y Raúl),

...al Instituto Nacional de Psiquiatría, y

...a la Universidad Nacional Autónoma de México.

“Toda tentativa, ya sea científica o religiosa, de definir la realidad, no es más que pura hipótesis”

Immanuel Kant

Tabla de contenido

1. ANTECEDENTES.....	4
1.1 GENERALIDADES.....	4
1.2 EPIDEMIOLOGÍA.....	4
1.3 FACTORES ETIOPATOGÉNICOS.....	5
1.4 BDNF Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.....	8
1.5 BDNF Y DEPENDENCIA A COCAÍNA.....	9
1.6 BDNF Y TRASTORNOS NEUROPSIQUIÁTRICOS.....	11
TABLA 1.1.....	13
TABLA 1.2.....	13
2. JUSTIFICACIÓN.....	164
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	16
4. OBJETIVOS.....	17
4.1 Objetivo General.....	17
4.2 Objetivos Específicos.....	17
5. HIPÓTESIS.....	18
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
6.1 Tipo de estudio.....	18
6.2 Población de estudio y tamaño de la muestra.....	18
6.3 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.....	19
6.4 Instrumentos de medición.....	20
6.4.1 MINI ENTREVISTA NEUROPSIQUIÁTRICA INTERNACIONAL	
6.4.2 ESCALA DE DEPRESIÓN DE HAMILTON (HAM-D)	
6.4.3 ESCALA DE MONTGOMERY-ASBERG PARA LA DEPRESIÓN (MADRS)	
6.4.4 INVENTARIO DE DEPRESIÓN DE BECK (BECK)	
6.4.5 ESCALA DE ANSIEDAD DE HAMILTON (HAM-A)	
6.4.6 ESCALA PARA EVALUAR EL EJE II SEGÚN EL DSM-IV (SCID-II AUTO-APLICABLE)	
6.4.7 ANÁLISIS GENÉTICO.	
6.5 Plan de análisis de los resultados.....	29
6.6 Diseño del estudio.....	29
6.6.1 Generalidades.....	29
6.6.2 Periodo de reclutamiento.....	31

6.6.3 Periodo de Evaluación ¡Error! Marcador no definido.

<u>7. CONSIDERACIONES ÉTICAS DEL ESTUDIO.....</u>	<u>31</u>
<u>8. RESULTADOS.....</u>	<u>29</u>
<u>9. DISCUSIÓN.....</u>	<u>32</u>
<u>10. CONCLUSIONES.....</u>	<u>37</u>
<u>11. REFERENCIAS.....</u>	<u>39</u>
<u>12. TABLAS Y GRÁFICAS.....</u>	<u>42</u>

1. ANTECEDENTES.

1.1 GENERALIDADES

Los trastornos asociados al uso de sustancias constituyen un problema de salud pública primordial, dadas las implicaciones en el empleo de recursos económicos para tratamiento, manejo de comorbilidades, ausentismo laboral y repercusión psicológica y de desgaste familiar.

Se define como droga a cualquier sustancia que genera necesidad imperiosa de volver a consumirla para experimentar sensaciones placenteras o de bienestar (refuerzo positivo) o para evitar la sintomatología de abstinencia u otro malestar físico (refuerzo negativo).¹⁴

El diagnóstico dual también conocido como; *Patología Dual, Trastorno Dual, Condición Dual o Dualidad* se refiere a la comorbilidad o concurrencia de un diagnóstico psiquiátrico mayor (en el Eje I y/o Eje II, según el DSM-IV-TR), con un trastorno adictológico, de ordinario, abuso o dependencia. El término *dual*, parecería hacer mención a cualquier combinación de dos padecimientos, pero en psiquiatría se ha reservado para definir a dichos pacientes por su: a) alta prevalencia, b) significado pronóstico, c) formulaciones diagnósticas, y d) toma de decisiones.

1.2 EPIDEMIOLOGÍA

El consumo de sustancias y las implicaciones para la salud, economía y sociedad, actualmente representan algunos de los problemas de salud pública más importantes en México. Durante la última década se han presentado cambios en el patrón de inicio, mantenimiento y tipos de sustancias consumidas. Algunas de las más importantes son una serie de sustancias emergentes, por ejemplo, la cocaína en sus diversas formas y modos de uso ha mostrado un aumento mayor al trescientos por ciento en el patrón *alguna vez en la vida* en la Encuesta Nacional de Adicciones del 2008. Otras como 3,4-metilendioximetanfetamina (MDMA o Éxtasis), ketamina,

anfetaminas y metanfetaminas, dietilamida de ácido lisérgico (LSD), han tenido una difusión más amplia, por lo que estamos presenciando una transformación en las tendencias del uso de las sustancias.⁴⁰

En México, la Encuesta Nacional de Adicciones del año 2008, reveló que en sólo seis años creció en un 50% el número de personas adictas a las drogas ilegales y en 30% la cifra de quienes alguna vez las han consumido. Además, existe una alta disponibilidad de las drogas para los adolescentes; hasta 43% de los jóvenes de entre 12 y 25 años de edad está expuesto a ellas. De éstos, la mitad llega a consumir la sustancia de manera experimental, el 13% de manera frecuente y 2% de los hombres y 1.2% de las mujeres llegan a niveles de dependencia. Lo más nuevo en el consumo de drogas, según el estudio, es la propagación de la cocaína y las metanfetaminas con varias combinaciones. En 1998, este consumo se registraba regularmente sólo en Tijuana y Baja California, sin embargo, hoy en día estos químicos se consumen especialmente entre los jóvenes en más de 100 ciudades de todo el país. El número de consumidores de cocaína se duplicó en los últimos seis años al pasar de 1.23% a 2.5%.⁴¹

Una vez comentada esta información y en relación con el diagnóstico dual, según la ECA los pacientes con un diagnóstico psiquiátrico mayor y trastorno por consumo de sustancias presentes de forma concomitante constituyen del 30 al 50% de la población psiquiátrica general y en más del 80% de la población consumidora de sustancias existe algún trastorno psiquiátrico. En términos generales, la Organización Mundial de la Salud, estima que dos tercios de la población consumidora de sustancias cursa con algún grado de psicopatología y un tercio de la población psiquiátrica consume sustancias psicoactivas y para el año 2025 será de dos tercios.

1.3 FACTORES ETIOPATOGÉNICOS

Las adicciones representan un elevado costo humano y económico para la sociedad, al tiempo de que los tratamientos disponibles son poco e inadecuadamente efectivos para la mayoría de la gente.

La teoría de la *automedicación* popularizada por Edward Khantzian en el año 1985, revela que los efectos específicos de las sustancias son perseguidos por usuarios con necesidades de minimizar estados emocionales y mentales negativos, y por lo tanto rara vez se elige al azar la sustancia de abuso o problema. Actualmente lo que más vigencia tiene es el modelo biopsicosocial, éste propone una explicación multifactorial en donde juegan un papel importante los elementos de tipo genético, interactuando con factores ambientales, psicológicos y socioculturales.

Dados los avances en los trastornos psiquiátricos, se ha planteado una nueva búsqueda en la fisiopatología celular y molecular del proceso de adicción, por lo que una mejoría en el entendimiento de la neurobiología de las adicciones puede representar mejores y más efectivos tratamientos.⁹

Las características de la conducta adictiva en personas pueden ser reproducidas en animales de laboratorio, donde los hallazgos son semejantes a la situación clínica. Actualmente, estudios acerca del mecanismo de reforzamiento adictivo y más recientemente en modelos animales para estudio de fenómeno de *craving*, han hecho posible la identificación de regiones del cerebro que juegan un papel determinante en el desarrollo de una conducta adictiva. Este sustrato neurobiológico ha sido recientemente el centro de diversas investigaciones en la alteración celular y molecular que subyace estos cambios conductuales.⁹

Una adicción está caracterizada por un uso descontrolado y compulsivo de una sustancia, con consecuencias claramente negativas y está relacionada con la prevalencia de varios trastornos psiquiátricos, contribuyendo a la morbilidad y a la mortalidad de los mismos. La vulnerabilidad es un rasgo complejo, influenciado tanto por factores neurobiológicos, como psicosociales y de desarrollo, aunque, en la actualidad se ha dado un papel importante a los factores genéticos como uno de los más importantes en la vulnerabilidad al abuso o al desarrollo de una dependencia, y los factores ambientales desempeñan un papel más destacado en el consumo.⁹

Tras la llegada de una sustancia con capacidad adictiva al sistema nervioso, se produce su unión con alguno de los receptores neuronales, apareciendo sensaciones gratificantes y activándose una cascada neuroquímica que es similar a la que produce el refuerzo. Estos cambios son parecidos a los que se producen cuando las personas comienzan actividades básicas para el mantenimiento de la vida, como comer o mantener relaciones sexuales. Sin embargo, cuando esta cascada neuroquímica se dispara por el consumo de sustancias, su intensidad y duración excede a la fisiológica.¹⁴

Se sabe que el consumo agudo de drogas induce la activación de vías y áreas del sistema nervioso central, como las vías dopaminérgicas mesolímbica y mesocortical, los núcleos del rafe y la amígdala. Las vías específicas, los receptores y el sistema de neurotransmisión implicado dependen de cada sustancia.¹⁴ Particularmente contribuye a una adicción el aumento de la neurotransmisión dopaminérgica (DA), de forma característica en el diencefalo. Otros neurotransmisores y vías incluyen la opioide, colinérgica, GABAérgica, noradrenergica y glutamatérgica. Además, investigaciones recientes han señalado a los mecanismos de comunicación celular como los factores de crecimiento y mecanismos de comunicación intracelular como receptores membranales, receptores acoplados a proteínas G y cAMP como importantes vías en la patogénesis de las adicciones.¹

Se ha demostrado que con opiáceos, psicoestimulantes (p.ej. cocaína), 3,4-metilendioxi Anfetaminas (éxtasis, MDMA), cannabis, alcohol y nicotina aumenta la descarga de dopamina en el *núcleo accumbens* (NAc). El circuito de recompensa actuaría de la siguiente manera; tras la estimulación del área tegmental ventral (VTA), ésta produciría un aumento en la liberación de dopamina en el NAc. Este cambio se ha relacionado con la sensación subjetiva gratificante. Por ello se piensa que todas las drogas aumentan directa o indirectamente la transmisión dopaminérgica. El sistema opioide es el segundo sistema propuesto como responsable de la producción de refuerzo. En ratas *knock-out*, para el receptor μ opioide, se ha mostrado que se suprime el efecto reforzante de las drogas de abuso. Otro sistema mencionado, claramente vinculado es el GABAérgico, ya que tampoco parece que los agonistas de los receptores de γ -aminobutírico (GABA-A) estimulen las células dopaminérgicas y se han relacionado con las conductas adictivas. Todos estos datos indican que las bases

biológicas de las conductas adictivas incluyen un complicado entramado de relaciones entre los diversos sistemas de neurotransmisión.¹⁴ En este sentido, se han implicado otras neuroaminas, como la serotonina, que a la vez se encuentra íntimamente relacionada con el desarrollo de trastornos del estado de ánimo.

Tras el consumo repetido de drogas aparecen fenómenos de neuroadaptación, que dependen del tipo de sustancia consumida. Los cambios inducidos producen modificaciones en el funcionamiento nuclear que alteran los fenómenos de transcripción.

1.4 BDNF Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Los factores de transcripción estudiados y relacionados con la neuroadaptación son múltiples, pero uno en particular se ha relacionado frecuentemente con el fenómeno de la adicción; el factor CREB (*cAMP-response element binding protein*, CREB), activa en el núcleo celular la expresión de determinados genes que se transcriben en mRNA, las instrucciones de algunos de esos mRNA se traducen en proteínas que refuerzan la sinapsis, como el que se menciona a continuación.¹⁴

El factor de crecimiento derivado del cerebro (*brain-derived neurotrophic factor*, BDNF), es una proteína dimérica pequeña (76kD), miembro de la familia de factores neurotróficos y es el más abundante en tejido nervioso. Ejerce su influencia a través del receptor TrkB, miembro de la familia de receptores tirosin-kinasa, y desempeña un importante papel en supervivencia y diferenciación en neuronas.¹

Cómo miembro de una amplia familia de factores de crecimiento neurales, BDNF desempeña un papel determinante en liberación de neurotransmisores, mantenimiento y formación de enlaces sinápticos y plasticidad neuronal, el mal funcionamiento en alguno de estos sistemas de trofismo se ha relacionado a la presencia de diferentes trastornos neuropsiquiátricos.^{10,32,34,48,51}

Un polimorfismo de nucleótido único (*Single-Nucleotide Polymorphism*, SNP) en el nucleótido 196 (G/A) del gen que codifica para la proteína BDNF origina una sustitución de valina (*Val*) por metionina (*Met*) en la posición 66

(*Val66Met*). Aunque ésta variación no parece afectar la función de la proteína madura, si en cambio altera el procesamiento y empaquetamiento de su precursor (pro-BDNF) y consecuentemente la regulación de su secreción. Los déficits en la producción y utilización de ésta proteína pueden dar origen a una variedad de disfunciones en el sistema nervioso central.³⁶

Estudios en neurodesarrollo sugieren que es requerida la combinación de factores ambientales y genéticos para la manifestación de algunos trastornos psiquiátricos. La alteración en síntesis y/o liberación de neurotrofinas durante periodos definidos pueden afectar las vías neuronales y esto puede subyacer el desarrollo de las enfermedades.²

1.5 BDNF Y DEPENDENCIA A COCAÍNA

Un modelo en ratas mostró el aumento progresivo en los niveles de BDNF en el sistema límbico después de retiro de cocaína, sugiriendo un papel en modificación sináptica subyacente. Otro estudio en animales, con infusión de BDNF en el sistema DA aumentó dramáticamente los efectos de cocaína. Un tercer estudio, a nivel genético, empleó a 1004 sujetos y 1494 SNP's para escaneo de genes de vulnerabilidad a abuso de polisustancias, encontraron marcadores positivos del gen de BDNF.¹

Como ya se mencionó previamente, el gen de BDNF codifica un precursor (proBDNF), el cual teóricamente formará la proteína madura. Solo existe un frecuente y no conservativo SNP en el gen humano para BDNF (dbSNP número rs6265) identificado, el *Val66Met*. Este SNP, se localiza en el extremo 5'-proBDNF y como se mencionó arriba, no parece modificar la actividad intrínseca de la proteína madura, sin embargo puede modificar el procesamiento intracelular y su secreción.³

Por ejemplo, se ha observado que existen diferencias significativas para el genotipo *Val66Met* en la distribución de sujetos con dependencia, con frecuencia mayor en homocigotos *Val* en sujetos con adicción, así mismo, estudios *In vitro* mostraron que el alelo *Val* se asoció a un aumento en la producción intracelular y regulación en

secreción del BDNF, sugiriendo en general que el aumento en la actividad del BDNF contribuye a la susceptibilidad a adicciones.⁷

La producción de BDNF a partir de la vía de biosíntesis es compleja, es un proceso altamente regulado y el mecanismo es poco claro. Surge la pregunta acerca si la coexpresión de BDNF_{Met} altera el proceso de producción de forma original (BDNF_{Val}) y la coexpresión de diferentes neurotrofinas en la misma célula puede alterar el proceso de producción de una de ellas. Sigue siendo confusa la naturaleza de repercusión en el procesamiento cuando son expresadas en la misma célula las formas BDNF_{Met} y BDNF_{Val}. Esto es relevante debido a que se ha estimado que cerca del 20 al 30% de los humanos son heterocigotos para el alelo *Met*.⁷

En relación con lo anterior, el SNP *Val66Met* de BDNF afecta solo el proceso de producción en determinadas células neuronales y cuando se expresan los alelos juntos en la misma célula (BDNF_{Met-Val}), BDNF_{Met} altera el procesamiento de BDNF_{Val} por la formación de heterodímeros que disminuyen la eficacia en la vía de secreción, generando un fenotipo de vulnerabilidad para alteraciones en memoria o desarrollo de trastornos neuropsiquiátricos.⁴

Se menciona que, cuando existe coexpresión en la misma célula, las pro-formas de BDNF_{Met} y BDNF_{Val} se heterodimerizan, debido al conocimiento de otras neurotrofinas que tienen la misma reacción. ⁷

La regulación a la alza en expresión de BDNF se asocia con diversos casos de abuso de sustancias, como en anfetaminas, morfina, tetrahidrocannabinoides y cocaína. Esta proteína modula varios tipos de conductas relacionadas a la adicción, por ejemplo; en modelos animales una infusión de BDNF en el NAc aumenta el condicionamiento a cocaína, mientras que una reducción lo disminuye, además la infusión de BDNF en áreas mesolímbicas aumenta la respuesta psicomotora del psicoestimulante y aumenta la respuesta inducida por cocaína.^{4,27}

El rol de varios factores de crecimiento se ha visto en relación a estudios experimentales, por ejemplo, Berlow y colaboradores realizaron una infusión de BDNF, NT3 y NT4 en el VTA, misma que previno la adaptación bioquímica a la exposición crónica a cocaína y morfina. Esto sugiere fuertemente la importancia de los factores de crecimiento, entre ellos BDNF, en el desarrollo positivo o negativo de las adicciones.^{10,52}

En otros modelos animales, la preferencia al consumo de alcohol y cocaína puede ser alterada por la administración de BDNF o por delección del gen en ratones heterocigotos.⁷

El BDNF se ha encontrado en áreas de influencia para recompensa incluyendo el hipocampo, amígdala, corteza prefrontal. Las estimaciones indican una contribución genética en gemelos homocigotos de 60% de la varianza.^{5,24}

Los resultados en experimentos de Graham y cols con BDNF, anticuerpos para BDNF e inyecciones del vector viral AAV sugieren que el *núcleo accumbens* es el sitio de acción del BDNF, este y el vector viral pueden revelar la repercusión en el funcionamiento biológico en estas áreas del cerebro.⁶

1.6 BDNF Y TRASTORNOS NEUROPSIQUIÁTRICOS

El BDNF actúa como un promotor de supervivencia y plasticidad sobre varios grupos de neuronas incluyendo neuronas corticales e hipocámpales, así como neuronas colinérgicas, dopaminérgicas y serotoninérgicas. Una infusión de BDNF en la *sustancia nigra*, protege de reducción dopaminérgica estriatal inducida por neurotoxinas. Asimismo, ejerce su función como potente neurotrófico en neuronas serotoninérgicas (5-HT), cuando se realiza una infusión en diencefalo da como resultado una elevación dramática en la densidad de fibras 5-HT, así como protección de daño neurotóxico.^{1,31,37}

Las adicciones son muy frecuentes en sujetos con trastorno bipolar, con tasas de prevalencia de hasta el 60%. Estudios en familias con trastorno bipolar (TBP), han mostrado una sobretransmisión del alelo *Val*, con un aumento en la actividad de BDNF en familiares afectados, sugiriéndolo como un marcador de vulnerabilidad

para el desarrollo del TBP. Así mismo, los trastornos por uso de sustancias se han visto más comúnmente en sujetos con trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) y el aumento en la actividad del BDNF puede ser implicado en su patogénesis.¹¹

Duman y cols, primero demostraron que la administración crónica de los antidepresivos aumentaba la expresión del BDNF en hipocampo. Otro estudio demostró que la administración central de BDNF produce un efecto parecido a antidepresivos.¹²

Por ejemplo, los sujetos en depresión presentan anhedonia que es caracterizada por pérdida de motivación o capacidad para sentir placer. Las vías dopaminérgicas mesolímbica, VTA-NAc son críticas para la motivación y el placer. El BDNF y el TrkB son expresados en estas vías y es posible que haya una alteración en su función que dé el sustento neurobiológico del mecanismo de anhedonia en depresión. Recientemente se ha mostrado en modelos genéticos FSL/FRL de depresión, altos niveles de BDNF en corteza prefrontal, corteza occipital e hipotálamo de animales FSL contra FRL.^{13,28,29,33}

La hipótesis que relaciona a las neurotrofinas y la depresión se ha basado en las correlaciones entre estrés, tratamientos antidepresivos y regulación a la baja o alta del BDNF respectivamente. Avances en el conocimiento de la biología celular del BDNF, incluyendo los factores de transcripción, procesamiento intracelular y secreción pueden ofrecer nuevos conocimientos de su participación en la fisiopatología de los trastornos del estado de ánimo. Además, tanto el precursor pro-BDNF y la proteína madura pueden ejercer efectos opuestos en la función celular, el impacto del pro-BDNF y su repercusión sobre trastornos del estado de ánimo debería ser evaluada. Las influencias opuestas de BDNF y el pro-BDNF en la potenciación a largo plazo o depresión de larga evolución han contribuido a la dicotomía acerca de las acciones del BDNF sobre la conducta mediada por estrés y los sistemas de recompensa.^{26,28}

Tabla 1.1 BDNF y Depresión

BDNF y Depresión			
Autor(es)	Año	Revista	Aportación
Egan M, et.al.	2003	Celular/ Molecular	1. Asociación de $_{Met}$ BDNF con pérdida de memoria, activación hipocampal anormal, disminución en niveles NAA hipocampal.
Campbell Sy MacQueen G.	2003	J Psychiatry Neuroscience	1. Niveles de glucocorticoides elevados se asocian a TDM, respectivamente a neurogénesis y daño citotóxico. 2. Cambios en volumen hipocampal, en función cortical frontotemporal y del sistema límbico relacionados a regulación del ánimo.
Woo N, et.al.	2005	Nature Neuroscience	1. El proBDNF, vía activación del $p75^{NTR}$ facilita la depresión a largo plazo.
Angelucci F, Brene Sy Mathe A.	2005	Molecular Psychiatry	1. Disminución en niveles plasmáticos de BDNF en TDM. 2. Inmunoreactividad aumentada en estudio postmortem sobre hipocampo. 3. Estrés induce disminución de mRNA-BDNF. 4. Depresión inducida por estrés relacionada a la disminución BDNF.
Lang U, Hellewg R y Galliant J.	2005	Neuropsychopharmacology	1. Asociación fenotípica serotoninérgica con BDNF. 2. Correlación negativa de niveles séricos de BDNF y actividad serotoninérgica.
Gervasoni N, et.al.	2006	Neuropsychobiology	1. Tratamiento antidepresivo tiene un efecto positivo en los niveles séricos de BDNF y sostiene la hipótesis de la relación de éste y trastornos del estado de ánimo.
Martinowich K, Husseinini My Lu B.	2007	Nature Neuroscience	1. BDNF puede tener un efecto opuesto al indicado durante el estrés. 2. Las formas proBDNF y BDNF facilitan el establecimiento a largo plazo de depresión y potenciación respectivamente, ejerciendo efectos opuestos.

Tabla 1.2 BDNF y Adicciones

BDNF y Adicciones			
Autor(es)	Año	Revista	Aportación
Janak P, et.al.	2006	Alcoholism: Clinical and Experimental Research	1. En ratones con bajas concentraciones de alcohol existe aumento en la expresión de BDNF en el cerebro con regulación del consumo de alcohol. 2. El BDNF en amígdala regula los efectos ansiolíticos del alcohol. 3. Evidencia del aumento en la expresión del GDNF reduce la auto-administración de alcohol en ratas.
Schoenbaum G, Stalnaker Ty Shaham Y.	2007	Nature Neuroscience	1. Cocaína tienen inducción en formación y liberación del BDNF durante las fases iniciales con aumento en propensión a recaídas posteriores. 2. El sitio crítico para este efecto depende del NAc.
Undine L, et.al.	2007	J Psycho- pharmacology	1. Personas con el polimorfismo $Val66Met$ y disminución en función de BDNF tienen mayor vulnerabilidad para iniciar y mantener conducta adictiva a nicotina.
Tsai S-J.	2007	Medical Hypotheses	1. Personas con $Val66Met$ se asocian a mayor secreción de BDNF en respuesta a los estímulos, comparados con el alelo normal Met . 2. Frecuencia alta de $_{Val}$ BDNF en personas con conducta adictiva comparado con sujetos controles.
Angelucci F, et.al.	2007	J Psycho- pharmacology	1. Identifica el posible cambio de neurotrofinas en consumidores a cocaína. 2. El BDNF disminuye en consumidores a heroína, sin embargo NGF disminuye en consumidores a heroína y cocaína. 3. Identifica un rol de BDNF y NGF en neurotoxicidad y adicción inducida.

2. JUSTIFICACIÓN.

El diagnóstico dual, es decir la comorbilidad del trastorno depresivo mayor con dependencia a cocaína, representa un elevado costo humano y económico para el individuo que lo porta, para la familia del mismo, así como a la sociedad y los sistemas de salud que se encargan del tratamiento y rehabilitación.

Se han encontrado altas tasas de prevalencia para trastornos por consumo de sustancias en personas portadoras de depresión mayor, se ha llegado a documentar en el 40 y hasta al 60% de ellos.^{23,25}

La información que se tiene respecto a la etiopatogenia del trastorno depresivo mayor, así como de los trastornos por uso de sustancias es poco concluyente, principalmente relacionada a factores de susceptibilidad neurobiológica en asociación con estresores externos ambientales, sin embargo se han realizado pocos estudios que permitan elucidar de forma específica cuales son los rasgos genéticos que dan origen a una predisposición para desarrollar cualquiera de los dos trastornos, cada uno por separado o en forma concomitante.^{38,39,45,46}

Hasta donde la búsqueda de información nos ha permitido revisar la asociación del BDNF y sus polimorfismos en el desarrollo de depresión mayor y trastornos por consumo de sustancias, no se realizado ningún estudio que relacione a ambos trastornos usando como vía etiopatogénica común a ésta misma molécula dimérica, realizando así un primer acercamiento a esclarecer la imbricada etiopatogenia y las altas tasas de comorbilidad entre ambas.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿De qué forma se comportan las frecuencias alélicas del BDNF, es decir los polimorfismos (*Val/Val*, *Val/Met* y *Met/Met*) en los pacientes con diagnóstico dual, comparado con los pacientes únicamente deprimidos?

4. OBJETIVOS.

4.1 Objetivo General.

Describir la asociación del gen de BDNF a través de sus polimorfismos *Val/Val*, *Val/Met* y *Met/Met* en población mestizo-mexicana, con variables clínicas del trastorno depresivo mayor solo (edad de inicio del trastorno, tiempo de evolución del episodio actual y presencia de intento suicidas o síntomas psicóticos, número de episodios depresivos previos, presencia de intentos suicidas o síntomas psicóticos en episodios previos, número de tratamientos con antidepresivos y duración de los mismos) y comórbido con el trastorno por dependencia a cocaína (mismas variables clínicas del trastorno depresivo mayor, así como variables clínicas de la dependencia a cocaína; abuso actual o a lo largo de la vida de otras sustancias, dependencias actual o a lo largo de la vida, características de la remisión, disfunción en diversas áreas de la vida).

4.2 Objetivos Específicos.

4.2.1 Describir las frecuencias alélicas de las variantes polimórficas del gen BDNF en los grupos de estudio (Pacientes con TDM vs. Pacientes con TDM comórbido con Dependencia a cocaína).

4.2.2 Describir la asociación de las frecuencias alélicas (*Val/Val*, *Val/Met* y *Met/Met*) y las diferentes variables clínicas de interés (edad de inicio, número de episodios, respuesta a tratamiento, comorbilidad) en los grupos de estudio.

4.2.3 Describir la asociación entre *Val66Met* del BDNF y las diferentes variables clínicas de interés (edad de inicio, número de episodios, severidad de los episodios, respuesta a tratamiento, comorbilidad) en los grupos de estudio.

4.2.4 Determinar si los polimorfismos del BDNF pueden ser útiles como marcadores genéticos de vulnerabilidad para desarrollar un trastorno depresivo y dependencia a cocaína como diagnóstico dual.

5. HIPÓTESIS.

El alelo *Val* del BDNF (genotipo *Val/Val*) se asociará principalmente con la dependencia a cocaína en sujetos con TDM, así como con la presencia de inicio del primer consumo a menor edad, mayor comorbilidad con dependencia a otras sustancias adictivas, menor número de episodios depresivos, menor severidad de episodios depresivos, mejor respuesta a antidepresivos.

El alelo *Met* del BDNF (genotipos *Val/Met* y *Met/Met*) se asociarán principalmente con el TDM así como con la presencia de un mayor número de episodios depresivos, mayor severidad de los episodios depresivos, inicio del primer episodio a menor edad y menor comorbilidad con dependencia a otras sustancias adictivas.

El polimorfismo *Val66Met* del BDNF se asociará con un inicio a menor edad, mayor comorbilidad con otros trastornos psiquiátricos, menor respuesta a tratamiento, mayor severidad, mayor número de recaídas y menor funcionalidad en los grupos de estudio.

6. MATERIAL Y MÉTODOS.

6.1 Tipo de estudio.

Según la clasificación de Alvan Feinstein; Comparativo, observacional, retrolectivo, transversal y homodémico.

6.2 Población de estudio y tamaño de la muestra.

Se realizó el estudio en el que se incluyeron a sujetos que ingresaron al Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente”. Los sujetos procedentes del servicio de preconsulta y de la consulta externa general que contaron con los criterios de inclusión formaron el grupo de pacientes con trastorno depresivo mayor (aproximadamente 50 sujetos). Los sujetos procedentes del servicio de preconsulta, consulta externa general u hospital que fueron canalizados a la Clínica de Trastornos Adictivos y que contaron con los criterios para su inclusión formaron el grupo de pacientes con trastorno depresivo mayor en comorbilidad con dependencia a cocaína (aproximadamente 50 sujetos).

6.3 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

6.3.1 Inclusión.

- > Pacientes hombres o mujeres admitidos al Instituto Nacional de Psiquiatría entre 18 a 60 años de edad.
- > Que supieran leer y escribir.
- > Cumplir con criterios diagnósticos para el Trastorno Depresivo Mayor (TDM) episodio actual (según el DSM-IV-TR).
- > Cumplir con criterios diagnósticos para Dependencia a cocaína con consumo en el último año y TDM episodio actual, en comorbilidad (según el DSM-IV-TR).
- > Los pacientes aceptaron voluntariamente su participación en el estudio y firmaron el documento de consentimiento informado.

6.3.2 Exclusión.

- > Pacientes con alto riesgo suicida y/o síntomas psicóticos.
- > Comorbilidad en eje I con trastorno bipolar, trastornos psicóticos primarios, TOC y TEPT.
- > Mujeres en estado de gestación o sospecha del mismo.
- > Pacientes con un diagnóstico presuntivo de retraso mental.

- > Pacientes con alguna enfermedad médica general descompensada y/o neurológica.

6.3.3 Eliminación.

- > A solicitud del paciente.
- > Pacientes que no concluyeron las evaluaciones clínicas.
- > Muestra insuficiente o de mala calidad para análisis genético.
- > El presentar exacerbación del TDM (alto riesgo suicida/síntomas psicóticos) que pusiera en peligro la seguridad del paciente y/o terceros.

6.4 Instrumentos de medición.

6.4.1 MINI Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional.

La MINI es un instrumento diseñado como herramienta de ayuda para realizar diagnósticos de acuerdo a los sistemas DSM o CIE tanto en la práctica clínica cotidiana como en el campo de la investigación.

En realidad, más que un instrumento debe de considerarse una familia de instrumentos diseñados para satisfacer las necesidades de los distintos usuarios y ámbitos de aplicación (atención primaria, atención psiquiátrica especializada, investigación). La versión actual, MINI 4.6, explora de forma estandarizada los criterios necesarios para realizar diagnósticos de acuerdo al DSM-IV o a la CIE-10. Se trata de una entrevista diagnóstica altamente estructurada, relativamente breve y de fácil utilización, que está disponible en distintos idiomas, entre ellos el español. La entrevista está dividida en 14 secciones diagnósticas, entre las que se encuentra una sección correspondiente al consumo excesivo de alcohol (sección L) y otra correspondiente a trastornos asociados al consumo de drogas (sección M). Al inicio de cada sección existe un pequeño apartado de *screening* que permite, en caso de no cumplir los criterios, pasar a la sección diagnóstica siguiente.¹⁶

6.4.2 Escala de Depresión de Hamilton (HAM-D).

Es una escala, heteroaplicada, diseñada para ser utilizada en pacientes diagnosticados previamente de depresión, con el objetivo de evaluar cuantitativamente la gravedad de los síntomas y valorar los cambios del paciente deprimido. Se valora de acuerdo con la información obtenida en la entrevista clínica y acepta información complementaria de otras fuentes secundarias.

Si bien su versión original constaba de 21 ítems, posteriormente se realizó una versión reducida con 17 ítems, que es la recomendada por el *National Institute of Mental Health* de los Estados Unidos. La validación de la versión en español de esta escala se realizó en 1986 por Ramos-Brieva. Diferentes evaluaciones han permitido comprobar la validez discriminante, la fiabilidad y la sensibilidad al cambio, tanto en poblaciones hospitalizadas como ambulatorios.

Cada cuestión tiene entre tres y cinco posibles respuestas, con una puntuación de 0-2 ó de 0-4 respectivamente. La puntuación total va de 0 a 52. Pueden usarse diferentes puntos de corte a la hora de clasificar el cuadro depresivo. La Guía de Práctica Clínica elaborada por el NICE, guía con una alta calidad global en su elaboración y una puntuación de "muy recomendada" según el instrumento AGREE, recomienda emplear los siguientes puntos de corte: No deprimido; 0-7, Depresión leve; 8-13, Depresión moderada; 14-18, Depresión grave; 19-22, Depresión muy grave; >23.

Para la evaluación de la respuesta al tratamiento se ha definido como respuesta una disminución mayor o igual del 50% de la puntuación inicial de la escala, respuesta parcial como una disminución entre el 25-49% y una no respuesta como una reducción de menos del 25%. La remisión se ha considerado con una puntuación menor o igual a 7, aunque hay resultados que apoyan que este punto de corte debería de tener un valor más bajo.¹⁸

6.4.3 Escala de Montgomery-Asberg para la depresión (MADRS).

La Escala de Depresión de Montgomery – Asberg (Montgomery-Asberg Depression Rating Scale, MADRS) fue diseñada específicamente para evaluar el cambio en la intensidad de la sintomatología depresiva.

Traducida y adaptada al castellano por Conde y Franch (1984), fue posteriormente validada por Martínez R y cols (1991). Es una escala heteroaplicada de 10 ítems que evalúan sobre todo síntomas cognitivos y de alteración del estado de ánimo. Debe ser cumplimentada por personal médico o paramédico previamente adiestrado, al final de una entrevista clínica, pudiendo utilizarse otras fuentes de información (por ej. personas allegadas al paciente) de acuerdo con la práctica clínica habitual.

Para cada ítem la escala contempla 7 niveles de intensidad/gravedad, puntuados de 0 a 6, de los cuales cuatro (0-2-4-6) están predefinidos y los tres restantes (1-3-5) se reservan para situaciones intermedias en las que no es posible asignar con claridad el grado de intensidad sintomática a alguno de los niveles anteriores.

El entrevistador selecciona, para cada ítem, la alternativa de respuesta que mejor refleje la situación clínica actual del paciente, optando por los puntos intermedios cuando sea difícil el elegir entre una u otra de las opciones predefinidas. La puntuación total se obtiene sumando los valores de las opciones seleccionadas, siendo el rango de valores posibles entre 0 y 60.

Esta escala también es utilizada para seleccionar pacientes a efectos de su inclusión en ensayos clínicos u otro tipo de estudios, utilizando entonces el valor de la valoración inicial como referente.

Por último, se han planteado distintas propuestas para establecer categorizaciones de intensidad/severidad en función de las puntuaciones obtenidas, aspecto éste para el que la escala también ha demostrado ser de utilidad.

La categorización más aceptada es la siguiente: Normalidad; 0-6 puntos, Depresión leve; 7-19 puntos, Depresión moderada; 20-34 puntos, Depresión grave; ≥ 35 puntos.

Se han señalado algunos problemas de validez interna, así como la menor correlación de algunos ítems con la puntuación total de la escala, en especial los de “insomnio”, “disminución del apetito” y “pensamientos suicidas”.

Dado que incide más en los síntomas afectivos, dando un menor peso a lo somático, puede resultar especialmente útil en determinados subgrupos de población: ancianos, pacientes con depresión severa y pacientes con enfermedades físicas concomitantes.

El grado de correlación entre cada ítem y el resto oscila entre 0,12 (disminución del apetito) y 0,84 (tristeza manifiesta). La consistencia interna presenta valores entre 0,76 y 0,95. La fiabilidad inter-examinadores es alta (0.80-0.95). El rendimiento global de esta escala es similar al de la Escala de Depresión de Hamilton, con la que muestra una elevada correlación (0.70-0.90), tiene también buenos índices de correlación con otras escalas, como el Inventario de Depresión de Beck, la Escala Hospitalaria de Ansiedad-Depresión y la Escala de Impresión Clínica Global.^{19,20}

6.4.4 Inventario de Depresión de Beck.

El inventario de Depresión de Beck (BAI) fue desarrollado inicialmente como una escala heteroaplicada de 21 ítems para evaluar la gravedad (intensidad sintomática) de la depresión, conteniendo cada ítem varias fases autoevaluativas que el entrevistador leía al paciente para que éste seleccionase la que mejor se adaptase a su situación; sin embargo, con posterioridad su uso se ha generalizado como escala autoaplicada. Beck y cols. dan a conocer una nueva versión revisada de su inventario, adaptada y traducida al español por Vázquez y Sanz (1991), siendo ésta la más utilizada en la actualidad. Se sistematizan 4 alternativas de respuesta para cada ítem, que evalúan la gravedad/intensidad del síntoma y que se presentan igualmente ordenadas de menor a mayor gravedad. El marco temporal hace referencia al momento actual y a la semana previa. Ni la numeración de las alternativas de respuesta, ni los enunciados de los distintos ítems deben aparecer en el formato de lectura del cuestionario, ya que al dar una connotación clínica objetiva a las frases pueden influir en la opción de respuesta

del paciente. Su contenido enfatiza más en el componente cognitivo de la depresión, ya que los síntomas de esta esfera representan en torno al 50% de la puntuación total del cuestionario, siendo los síntomas de tipo somático/vegetativo el segundo bloque de mayor peso; de los 21 ítems, 15 hacen referencia a síntomas psicológicos-cognitivos, y los 6 restantes a síntomas somáticos vegetativos.

El paciente tiene que seleccionar, para cada ítem, la alternativa de respuesta que mejor refleje su situación durante el momento actual y la última semana. La puntuación total se obtiene sumando los valores de las frases seleccionadas, que van de 0 a 3. El rango de la puntuación obtenida es de 0-63 puntos. Como otros instrumentos de evaluación de síntomas, su objetivo es cuantificar la sintomatología, no proporcionar un diagnóstico.

Los puntos de corte usualmente aceptados para graduar la intensidad/severidad son los siguientes: No depresión; 0-9 puntos, Depresión leve; 10-18 puntos; Depresión moderada: 19-29 puntos; Depresión grave: >30 puntos.

A efectos de selección de sujetos para investigación, el punto de corte usualmente aceptado es > 21 puntos. Sus índices psicométricos han sido estudiados de manera casi exhaustiva, mostrando una buena consistencia interna (alfa de Crombach 0.76-0.95) La fiabilidad test oscila alrededor de $r=0.8$, pero su estudio ha presentado dificultades metodológicas, recomendándose en estos casos variaciones a lo largo del día en su administración.²¹

6.4.5 Escala de Ansiedad de Hamilton (HAM-A)

La escala de ansiedad de Hamilton (Hamilton Anxiety Scale, HAS) fue diseñada en 1959. Inicialmente, constaba de 15 ítems, pero cuatro de ellos se refundieron en dos, quedando reducida a 13. Posteriormente, en 1969 dividió el ítem "síntomas somáticos generales" en dos ("somáticos musculares" y "somáticos sensoriales") quedando en 14. Esta versión es la más ampliamente utilizada en la actualidad.

Se trata de una escala heteroaplicada de 14 ítems, 13 referentes a signos y síntomas ansiosos y el último que valora el comportamiento del paciente durante la entrevista. Debe cumplimentarse por el evaluador tras una entrevista, que no debe durar más allá de 30 minutos. El propio autor indicó para cada ítems una serie de signos y síntomas que pudieran servir de ayuda en su valoración, aunque no existen puntos de corte específicos. En cada caso debe tenerse en cuenta tanto la intensidad como la frecuencia del mismo.

Cada ítem se valora en una escala de 0 a 4 puntos. Hamilton reconoce que el valor máximo de 4 es principalmente un punto de referencia y que raramente debería alcanzarse en pacientes no hospitalizados. Sólo algunas cuestiones hacen referencia a signos que pueden observarse durante la entrevista, por lo que el paciente debe ser interrogado sobre su estado en los últimos días. Se aconseja un mínimo de 3 días y un máximo de 3 semanas.

Se trata de uno de los instrumentos más utilizados en estudios farmacológicos sobre ansiedad. Puede ser usada para valorar la severidad de la ansiedad de una forma global en pacientes que reúnan criterios de ansiedad o depresión y para monitorizar la respuesta al tratamiento. No distingue síntomas específicos de un trastorno de ansiedad, ni entre un desorden de ansiedad y una depresión ansiosa.

El entrevistador puntúa de 0 a 4 puntos cada ítem, valorando tanto la intensidad como la frecuencia del mismo. La puntuación total es la suma de las de cada uno de los ítems. El rango va de 0 a 56 puntos. Se pueden obtener, además, dos puntuaciones que corresponden a ansiedad psíquica (ítems 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 14) y a ansiedad somática (ítems 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13).

Aunque puede utilizarse sin entrenamiento previo, éste es muy recomendable. Caso de no estar habituado en su manejo es importante que sea la misma persona la que lo aplique antes y después del tratamiento, para evitar en lo posible interpretaciones subjetivas.

No existen puntos de corte para distinguir población con y sin ansiedad y el resultado debe interpretarse como una cuantificación de la intensidad, resultando especialmente útil sus variaciones a través del tiempo o tras recibir tratamiento.

A pesar de haberse utilizado en numerosos estudios clínicos como medida de ansiedad generalizada, no se centra en los síntomas de ésta, tal y como se contemplan en el DSM-IV. Los síntomas clave de los desórdenes de ansiedad generalizada reciben menos prominencia que los síntomas fóbicos y los referentes a excitación del sistema autonómico, que durante tiempo no han formado parte de la definición de ansiedad generalizada, están excesivamente considerados.

Muestra una buena consistencia interna (alfa de Cronbach de 0,79 a 0,86). Con un adecuado entrenamiento en su utilización la concordancia entre distintos evaluadores es adecuada ($r=0,74-0,96$). Posee excelentes valores test-retest tras un día y tras una semana ($r=0,96$) y aceptable estabilidad después de un año ($r=0,64$).

La puntuación total presenta una elevada validez concurrente con otras escalas que valoran ansiedad, como *The Global Rating of Anxiety* ($r=0,63-0,75$) y con el Inventario de Ansiedad de Beck ($r=0,56$). Distingue adecuadamente entre pacientes con ansiedad y controles sanos (puntuaciones medias respectivas de 18,9 y 2,4). Posee un alto grado de correlación con la Escala de Depresión de Hamilton ($r=0,62-0,73$).²²

6.4.6 Escala para evaluar el eje II según el DSM-IV (SCID-II auto-aplicable)

La SCID-II es una entrevista semiestructurada de ayuda diagnóstica para la evaluación de los 10 trastornos de personalidad contemplados en el eje II del DSM-IV, así como de los dos trastornos incluidos en el apéndice B de dicho manual.

Se trata de un instrumento heteroevaluado que ha de ser administrado por un entrevistador experto y entrenado en su manejo, siendo el juicio del médico el que, en base a la información obtenido, determina si el criterio se cumple o no.

En cada criterio se empieza con una pregunta amplia dirigida a saber si está presente o no, y después se le pide confirmación con ejemplos, o con razones que justifiquen esos comportamientos.

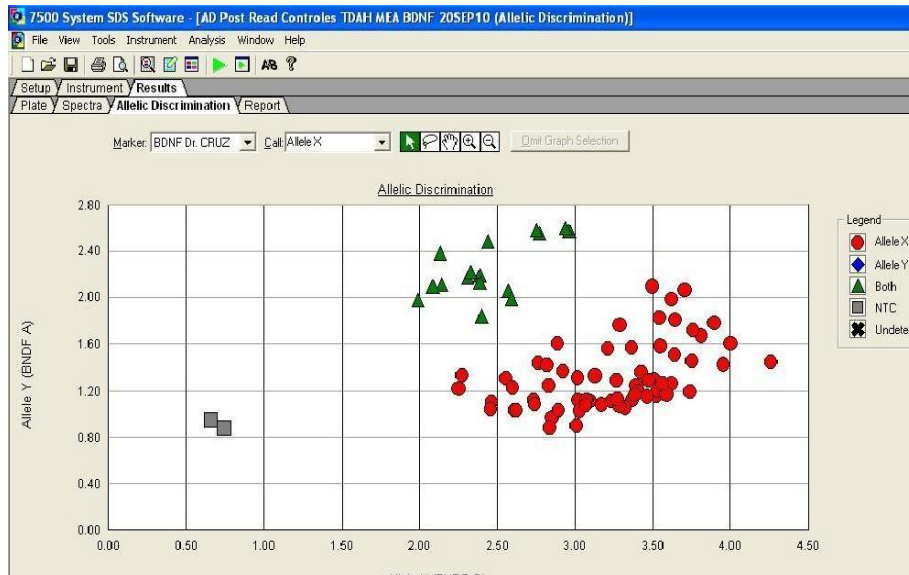
Cada uno de los criterios puede estar ausente o ser falso (1), estar por debajo del umbral (2) o ser positivo o por encima del umbral (3). Si al menos tres de los criterios puntúan 3, se considera que el trastorno de la personalidad está presente.¹⁷

6.4.7 Análisis Genético.

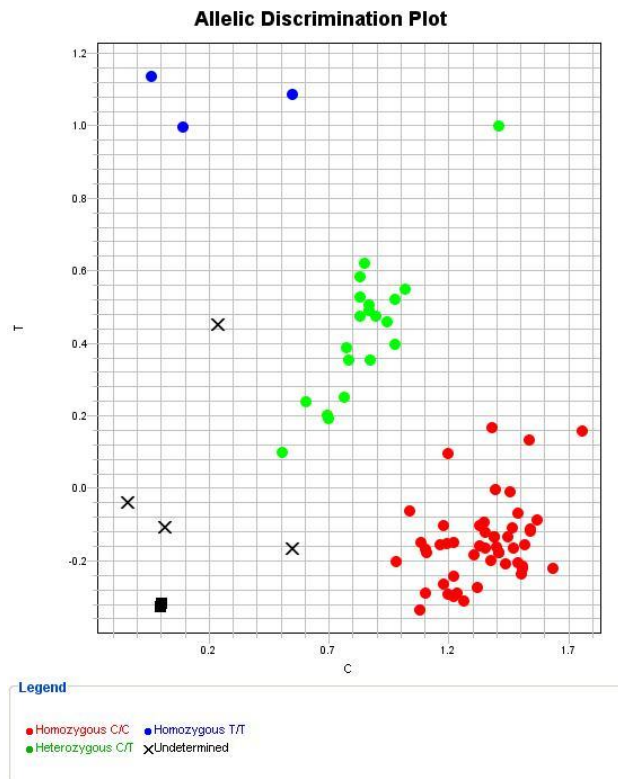
Procedimiento de genotipificación del polimorfismo:

Para la obtención del ADN se tomó una muestra de sangre periférica (sangre total) de aproximadamente 5 ml por venopunción al momento de la toma de muestra para estudios de rutina en consulta externa.

El SNP del gen BDNF, denominado *Val66Met (rs6265)* fue tipificado de cada muestra de DNA, empleando el método fluorogénico 5'-exonucleasa (TaqMan®; Applied Biosystems, con el ensayo Assays-on-Demand número C_11592758_10, (Applied Biosystems®, Foster city, CA). La genotipificación de la región se realizó mediante el método de discriminación alélica con sondas TaqMan®. El volumen final de la reacción fue de 13 µl y contuvo las siguientes condiciones de reacción: 4 µL de DNA genómico, 2.5 µL de TaqMan Master Mix y 0.125 µL de la sonda. La amplificación se llevó a cabo con el equipo *7500 Real Time PCR system* con software *SDS v2.1 (Applied Biosystems)*. El análisis mediante discriminación alélica fue llevado a cabo mediante la identificación estandarizada de cada uno de los genotipos para cada región analizada. (Ver ilustraciones siguientes)



Gráfica de software *Applied Biosystems* para discriminación alélica del gen BDNF. Los círculos (rojo) muestran la amplificación en homocigotos al alelo *Val*, los triángulos (verde) muestran la amplificación en heterocigotos a los alelos *Val/Met*. Los cuadrados (gris) son controles sin ADN.



Gráfica de software *Applied Biosystems* para discriminación alélica del gen BDNF. Los círculos rojos muestran la amplificación en homocigotos al alelo *Val*, los círculos verdes muestran la amplificación en heterocigotos a los alelos *Val/Met*, los círculos azules muestran la amplificación en homocigotos a los alelos *Met*. Las equis negras muestran indeterminación de la prueba de amplificación. Los cuadrados negros son controles sin ADN.

6.5 Análisis de los resultados.

Se intentó probar si existe una asociación entre las frecuencias alélicas (Portadores *Val/Val* y Portadores *Met* [que incluyó genotipos *Val/Met* y *Met/Met*]), el trastorno depresivo mayor solo o en comorbilidad con dependencia a cocaína (diagnóstico dual), y sus variables clínicas mediante la prueba de χ^2 . Se efectuó para las variables categóricas como: antecedentes de intentos suicidas previos, antecedente positivo de historia familiar para TDM, antecedente positivo de historia familiar para dependencia a sustancias, comorbilidad con un diagnóstico en eje I y comorbilidad con dos o más diagnósticos en eje I. En caso de variables dimensionales como edad del primer episodio depresivo, número de episodios previos y edad de inicio del consumo de cocaína, primero se obtuvo el promedio de la variable, misma que sirvió para comparación de sujetos con menor y con mayor valor en referencia a la media en cada una de las variables.

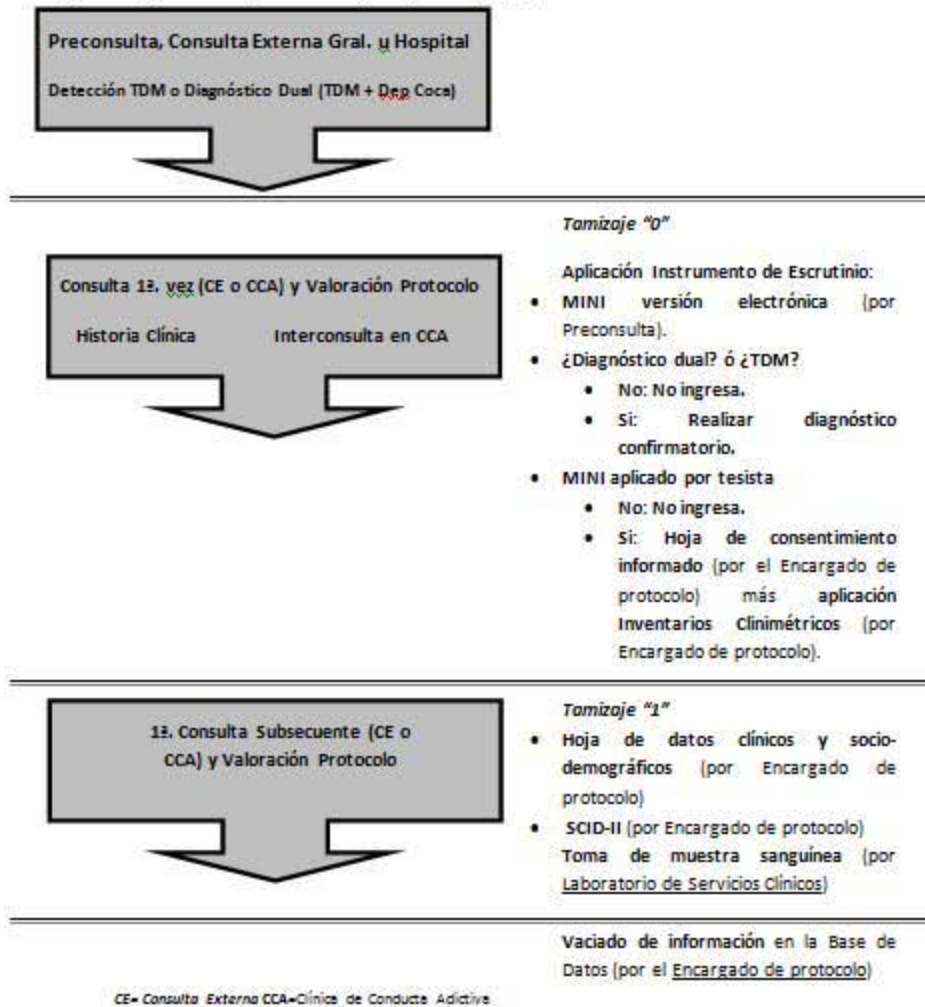
El análisis estadístico tendrá un nivel de significancia $\alpha = 95\%$ ($P = 0.05$).

6.6 Diseño del estudio.

6.6.1 Generalidades.

Se realizó un estudio de tipo transversal con dos grupos de pacientes diagnosticados, el primero con TDM y el segundo con Diagnóstico Dual (TDM comórbido con Dependencia a cocaína) que acudieron a tratamiento al Instituto Nacional de Psiquiatría. Fueron aceptados en el estudio los pacientes con diagnóstico corroborado tanto clínicamente como con M.I.N.I. Una vez cumplidos los criterios de inclusión, se obtuvo el consentimiento informado por escrito para aceptar al paciente en el estudio. (Fig.1)

Figura 1. Logística de captación de sujetos (ambos grupos).



6.6.2 Periodo de reclutamiento.

Una vez que el paciente fue evaluado en la cita de primera vez del INPRF y que fue considerado como candidato para ingresar al protocolo de investigación, se le explicó con detalle los procedimientos y las características del estudio y se le propuso su participación en forma libre y voluntaria. Asimismo, se resolvieron todas las dudas que el paciente haya tenido y finalmente en caso de haber aceptado participar, se firmó el documento de consentimiento informado. En la evaluación inicial, después de corroborar que el paciente cumpliera los criterios de inclusión y que haber firmado el documento de consentimiento informado, se obtuvo la historia clínica psiquiátrica, se estableció la presencia de diagnósticos psiquiátricos por medio de la entrevista M.I.N.I. (Mini-Internacional Neuropsychiatric Interview), se determinaron los antecedentes familiares de importancia (como presencia de otros trastornos psiquiátricos, enfermedades crónicas como diabetes, hipertensión, consumo de sustancias), y de la misma manera fueron recabados datos de antecedentes personales de importancia. (Fig.1)

La evaluación clínica se complementó con la aplicación de instrumentos para medir la gravedad objetiva y subjetiva del episodio de depresión y los síntomas de ansiedad, de igual forma se aplicó un inventario de características clínicas y socio-demográficas a los pacientes con Diagnóstico Dual. Los pacientes fueron citados para realizar la extracción de 5 ml de sangre venosa para el análisis genético en la misma fecha en la que se realizaron los estudios de rutina solicitados por los médicos tratantes de consulta externa. (Fig.1)

7. CONSIDERACIONES ÉTICAS DEL ESTUDIO.

Antes del ingreso a este proyecto de investigación, el paciente leyó y discutió con el investigador clínico el documento de consentimiento informado.

Este documento, a su vez, debió ser firmado, haciéndoles entrega de una copia, en tanto que una copia adicional fue anexada a la carpeta de investigación.

Durante toda la investigación se omitieron en las bases de datos los nombres de los pacientes, a estos fueron asignados un código numérico secuencial para los análisis estadísticos.

El material genético de aquellos pacientes que por cualquier razón fueron excluidos del protocolo se destruyó.

Los pacientes tuvieron la oportunidad de retirarse en cualquier momento del transcurso de la investigación sin que esto causara un perjuicio en su atención médica psiquiátrica subsecuente.

8. RESULTADOS.

Se obtuvo la información de 95 probandos afectados: 53 sujetos en el grupo de trastorno depresivo mayor y 42 sujetos para el grupo con dependencia a cocaína en comorbilidad con trastorno depresivo mayor. Siendo la información clínica y socio-demográfica siguiente.

Para el grupo de trastorno depresivo, la edad promedio fue de 37 años (DE \pm 11); siendo el 81% mujeres. El 42% se encontraba con pareja y el 58% eran solteros. En relación a su nivel de escolaridad, tuvo educación básica el 32%, educación media el 40% y educación superior el 28%. El 36% tenía un trabajo remunerado, el 47% se encontraban desempleado y el 17% eran estudiantes. (Tabla 1)

Un punto a destacar es el hecho que 79% tuvo antecedentes heredo-familiares para enfermedades neuropsiquiátricas, de los cuales 37% y 31% tuvieron al menos un familiar con depresión y dependencia a sustancias, respectivamente. (Tabla 1)

En cuanto a las características clínicas en éste mismo grupo, el tiempo promedio de evolución del episodio depresivo de estudio fue de 38 semanas (DE \pm 41). El 85% tuvo el antecedente de episodios depresivos previos, con edad promedio de inicio a los 21 años (DE \pm 12) y antecedente de 10 episodios previos (DE \pm 13). Estos pacientes obtuvieron un puntaje medio de 29 puntos en la Escala de depresión de Hamilton, 31 en la Escala Montgomery-Asberg, 31 puntos en el Inventario de depresión Beck y 21 puntos en la Escala Hamilton de

ansiedad. Según el M.I.N.I., se identificaron ideas de muerte, representadas como riesgo suicida en 40 sujetos (75%) y síntomas melancólicos en 34 sujetos (64%). (Tabla 2 y Gráfica 1)

Tabla 1. Datos Socio-demográficos				
	TDM		TDM - Dep Cocaína	
Total	n=53		n=42	
Edad	37 DE ± 11		30 DE ± 7	
Sexo n (%)	Femenino	43 (81)	Femenino	8 (19)
	Masculino	10 (19)	Masculino	34 (81)
Estado civil n (%)	Con pareja	22 (42)	Con pareja	19 (45)
	Sin pareja	31 (58)	Sin pareja	23 (55)
Escolaridad n (%)	Básico	17 (32)	Básico	18 (43)
	Medio	21 (40)	Medio	15 (36)
	Superior	15 (28)	Superior	9 (21)
Ocupación n (%)	Empleado	19 (36)	Empleado	25 (59)
	Desempleado	25 (47)	Desempleado	15 (36)
	Estudia	9 (17)	Estudia	2 (5)
AHF Psiquiátricos n (%)	42 (79)		34 (81)	
	Depresión	37 (37)	Depresión	8 (7)
	Dependencia	31 (31)	Dependencia	82 (73)

Tabla 1; Diferencias en las variables socio-demográficas y de historia familiar para trastornos neuropsiquiátricos (AHF Psiquiátricos) en ambos grupos. Se destaca la inversión de la muestra en el sexo de los participantes y la diferencia observada en historia familiar para depresión y dependencia a sustancias en cada grupo.

En relación con el segundo grupo comparativo (esto es, los pacientes con diagnóstico de depresión mayor en comorbilidad con dependencia a cocaína), la edad promedio de los mismos fue de 30 años (DE ± 7). El 85% fueron hombres y el 15% restante fueron mujeres. El 45% se encontraba con pareja y otro 55% eran solteros. Comparado con el grupo previo, la escolaridad de éste tuvo menor nivel; con educación básica el 43%, educación media el 36% y educación superior el 21%. Se mostró diferencia en la productividad laboral, con el 59.5% de sujetos con trabajo remunerado, el 36% se encontraban desempleados y el 5% eran estudiantes. (Tabla 1)

En este grupo de 42 sujetos, el 81% tuvo antecedentes heredo-familiares para enfermedades neuropsiquiátricas, ligeramente por arriba del grupo de depresión. Sin embargo, a diferencia de ese grupo; en éste, el 7% tuvo al menos un familiar con depresión y el 73% con dependencia a sustancias. (Tabla 1)

En cuanto a las características clínicas de la depresión, el grupo en el que se manifestó además la dependencia a cocaína mostró un curso con valores por debajo del encontrado en el grupo de solo depresión; con un tiempo promedio de evolución del episodio depresivo de 23 semanas (DE \pm 30), el 57% tuvo el antecedente de episodios depresivos previos, con edad promedio de inicio a los 20 años (DE \pm 10) y antecedente de 7 episodios (DE \pm 5) previos en promedio. (Tabla 2)

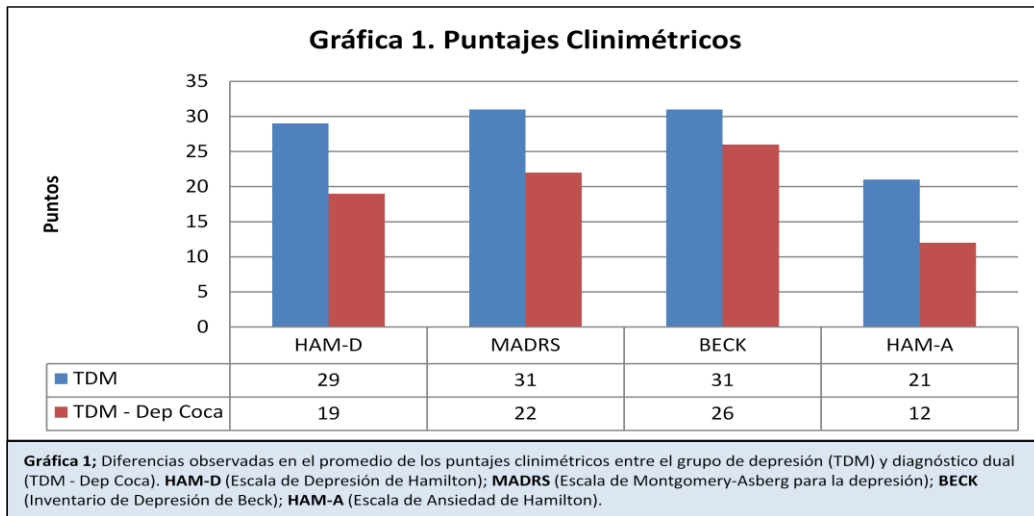
Tabla 2. Datos Clínicos Depresión

	TDM n=53		TDM - Dep Cocaína n=42	
Total				
Tiempo de evolución del EDM actual (semanas)	38	DE \pm 41	23	DE \pm 30
Antecedente de otros EDM previos n (%)	45	(85)	24	(57)
Edad de primer EDM	21	DE \pm 12	20	DE \pm 10
Número de EDM previos	10	DE \pm 13	7	DE \pm 5
Comorbilidad con UN diagnóstico en eje I n (%)	10	(19)	14	(33)
Comorbilidad con DOS diagnósticos en eje I n (%)	5	(9)	8	(19)
Comorbilidad con TRES O MÁS diagnósticos en eje I n (%)	5	(9)	5	(12)
HAM-D	29	DE \pm 7	19	DE \pm 9
MADRS	31	DE \pm 7	22	DE \pm 10
BECK	31	DE \pm 11	26	DE \pm 12
HAM-A	21	DE \pm 9	12	DE \pm 9
M.I.N.I. - Síntomas Melancólicos en EDM n (%)	34	(64)	19	(45)
M.I.N.I. - Riesgo Suicidio n (%)	40	(75)	22	(52)

Tabla 2; Diferencias en las variables clínicas entre grupos. Se destaca la diferencia observada en el tiempo de evolución del episodio depresivo mayor (EDM) actual, el porcentaje de sujetos con antecedente de otros EDM previos en cada grupo, la mayor comorbilidad en el grupo de diagnóstico dual (TDM - Dep Coca), así como los menores promedios en puntajes clinimétricos y presencia de síntomas melancólicos y riesgo suicida evaluado por M.I.N.I.

[**M.I.N.I.** (MINI Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional); **HAM-D** (Escala de Depresión de Hamilton); **MADRS** (*Escala* de Montgomery-Asberg para la depresión); **BECK** (Inventario de Depresión de Beck); **HAM-A** (Escala de Ansiedad de Hamilton)].

De igual forma al resultado descrito previamente, tuvieron puntuaciones más bajas en los instrumentos clinimétricos, con una media de 19 puntos en la Escala de depresión de Hamilton, 22 en la Escala Montgomery-Asberg, 26 puntos en el Inventario de depresión Beck y 12 puntos en la Escala de ansiedad de Hamilton. Se identificaron ideas de muerte (según el M.I.N.I.), representadas como riesgo suicida en 22 sujetos (52%) y síntomas melancólicos en 19 sujetos (45%). (Tabla 2 y Gráfica 1)



En relación con el uso concomitante de otras sustancias, podemos reportar que 33% de los sujetos presentaron abuso a una sustancia adicional en el último año y 26% previo al último año. Asimismo, 48% de los integrantes de la muestra (n=20) mostraron tener dependencia a una sustancia en el último año, a cocaína, y 52% (n=22) a dos o tres sustancias en el mismo periodo de tiempo, entre ellas la cocaína. (Tabla 3)

Debemos destacar que para el estudio de este grupo de pacientes, se consideró a la cocaína como droga de impacto, es decir, la sustancia que más disfunción causó en diversas áreas de la vida del individuo, por ejemplo; familiar, económica, académica, social, de pareja, de salud, legal, etc.

Tabla 3. Datos Clínicos de Uso de Sustancias		n (%)
Abuso actual (durante el último año) de UNA sustancia		14 (33)
Abuso actual (durante el último año) de DOS A TRES sustancia		2 (5)
Abuso actual (durante el último año) de CUATRO O MÁS sustancias		1 (2)
TOTAL		17 (40)
Abuso a lo largo de la vida (previo al último año) de UNA sustancia		11 (26)
Abuso a lo largo de la vida (previo al último año) de DOS A TRES sustancias		2 (5)
Abuso a lo largo de la vida (previo al último año) de CUATRO O MÁS sustancias		1 (2)
TOTAL		14 (33)
Dependencia actual (durante el último año) de UNA sustancia		20 (48)
Dependencia actual (durante el último año) de DOS A TRES sustancia		22 (52)
Dependencia actual (durante el último año) de CUATRO O MÁS sustancias		0 (0)
TOTAL		42 (100)
11.58 Dependencia a lo largo de la vida (previo al último año) de UNA sustancia		12 (29)
11.59 Dependencia a lo largo de la vida (previo al último año) de DOS A TRES sustancias		30 (71)
11.60 Dependencia a lo largo de la vida (previo al último año) de CUATRO O MÁS sustancias		0 (0)
TOTAL		42 (100)

Tabla 3; Presencia de otros trastornos por uso de sustancias (abuso/dependencia) concomitantes al diagnóstico de dependencia a cocaína. Para el estudio de este grupo de sujetos, se consideró a la cocaína como *droga de impacto*, es decir, la sustancia que más disfunción causó en diversas áreas de la vida del individuo, por ejemplo; familiar, económica, académica, laboral, social, de pareja, de salud, legal, etc.

Las características clínicas relevantes del patrón de consumo de cocaína en el grupo mostraron que la edad promedio de inicio del consumo fue 20 años (DE \pm 8). De los 42 sujetos, 28 se encontraron en consumo activo y 14 en remisión temprana. Tuvieron en promedio 6 recaídas en el uso de la cocaína tras un periodo de al menos un mes de abstinencia (DE \pm 9), el promedio de duración de abstinencia más corta fue de 1 mes (DE \pm 0.62) y de la más larga fue de 16 meses (DE \pm 24). La intensidad de consumo, medida en cantidad de cocaína usada por día, mostró un consumo habitual de 3 gramos en promedio (DE \pm 4) y consumo máximo de 11 gramos al día (DE \pm 10). (Tabla 4)

Resultados del análisis genético del polimorfismo Val66Met de BDNF

Los resultados en la genotipificación del gen BDNF para el grupo de depresión (n=53), del grupo de diagnóstico dual (n=42) y de un grupo de muestras obtenidas de sujetos sin diagnóstico psiquiátrico alguno (p.ej. sujetos control, n=81) se muestran en las tablas 5 y 6.

Tabla 4. Datos Clínicos de la Dependencia a Cocaína		
Edad de inicio de dependencia	20	DE ± 8
Curso actual de la dependencia n (%)	CONSUMO ACTIVO	28 (67)
	REM TOTAL TEMPR	5 (12)
	REM PARCIAL TEMPR	9 (21)
Tratamientos farmacológicos previos para TUS n (%)	15	(35)
Número de recaídas tras periodo de abstinencia	6	DE ± 9
Periodo de abstinencia más corto (MESES)	1	DE ± .62
Periodo de abstinencia más largo (MESES)	16	DE ± 24
Consumo habitual al día (gr)	3	DE ± 4
Consumo máximo al día (gr)	11	DE ± 10
Frecuencia de consumo habitual en días/semana n (%)	1. MAS DE UNA VEZ AL DÍA	6 (14)
	2. UNA VEZ AL DÍA	7 (17)
	3. CUATRO O MAS POR SEM	3 (7)
	4. TRES O MENOS POR SEM	26 (62)
Frecuencia de consumo máximo en días/semana n (%)	1. MAS DE UNA VEZ AL DÍA	28 (67)
	2. UNA VEZ AL DÍA	3 (7)
	3. CUATRO O MAS POR SEM	3 (7)
	4. TRES O MENOS POR SEM	8 (19)

Tabla 4; Información clínica del curso de la dependencia a cocaína previamente diagnosticada por M.I.N.I. *ABSTINENCIA* fue definida como el periodo de al menos un mes en el que el sujeto no haya presentado al menos un síntoma de dependencia (según el DSM-IV-TR). La intensidad del *CONSUMO*, fue la cantidad aproximada de cocaína usada por día, referida directamente por el paciente.

Se puede observar que para todos los grupos el genotipo prevalente fue el de los homocigotos *Val/Val* (con una frecuencia observada del 62 al 81% de todos los genotipos). Se observó una tendencia de distribución no equivalente entre los grupos de comparación (χ^2 : 5.52, DF: 2, $p=0.063$, ver Tabla 5 y Gráfica 2). La prueba *post hoc* mostró que el grupo de sujetos con depresión mayor tiene una menor frecuencia del genotipo *Val/Val* comparados con los controles (χ^2 : 5.27, DF: 1, $p=0.020$, ver Tabla 5), no así cuando se comparan con los sujetos con diagnóstico dual (χ^2 : 2.10, DF: 1, $p=0.147$, ver Tabla 5). Asimismo, y en relación con lo anterior, se observó una distribución estadística no equivalente de los alelos entre los grupos de comparación (χ^2 : 6.71, DF: 2, $p=0.034$, ver Tabla 6), y a su vez, la frecuencia del alelo *Val* fue significativamente menor en los sujetos deprimidos comparado con los sujetos control (χ^2 : 6.23, DF: 1, $p=0.012$, ver Tabla 6 y Gráfica 3).

Tabla 5. Prevalencia de genotipos BDNF n (%)				
	Reportes Literatura ¹⁷	Controles	TDM - Dep Coca	TDM
BDNF (Val/Val)	80 (80)	65 (81)	32 (76)	33 (62)
BDNF (Met/Met y Val/Met)	20 (20)	16 (19)	10 (24)	20 (38)
Total n (%)	100 (100)	81 (100)	42 (100)	53 (100)
Comparación de Grupos				
Grupos	Chi ²	DF	valor p	
Controles <i>vs</i> TDM - Dep Coca	0.273	1	0.601	
Controles <i>vs</i> TDM	5.273	1	0.020*	
TDM <i>vs</i> TDM - Dep Coca	2.103	1	0.147	
Controles <i>vs</i> TDM <i>vs</i> TDM - Dep Coca	5.521	2	0.063 [†]	

Tabla 5; Comparación de las frecuencias de los genotipos reportados en la literatura, del grupo control, del grupo de diagnóstico dual (TDM - Dep Coca) y del grupo de depresión mayor (TDM). El * muestra la diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia de los genotipos *Val/Val* y portadores *Met* entre los grupos TDM y Controles. Asimismo, † muestra una tendencia de diferencia significativa en la prevalencia de los genotipos *Val/Val* y portadores *Met* entre los tres grupos.

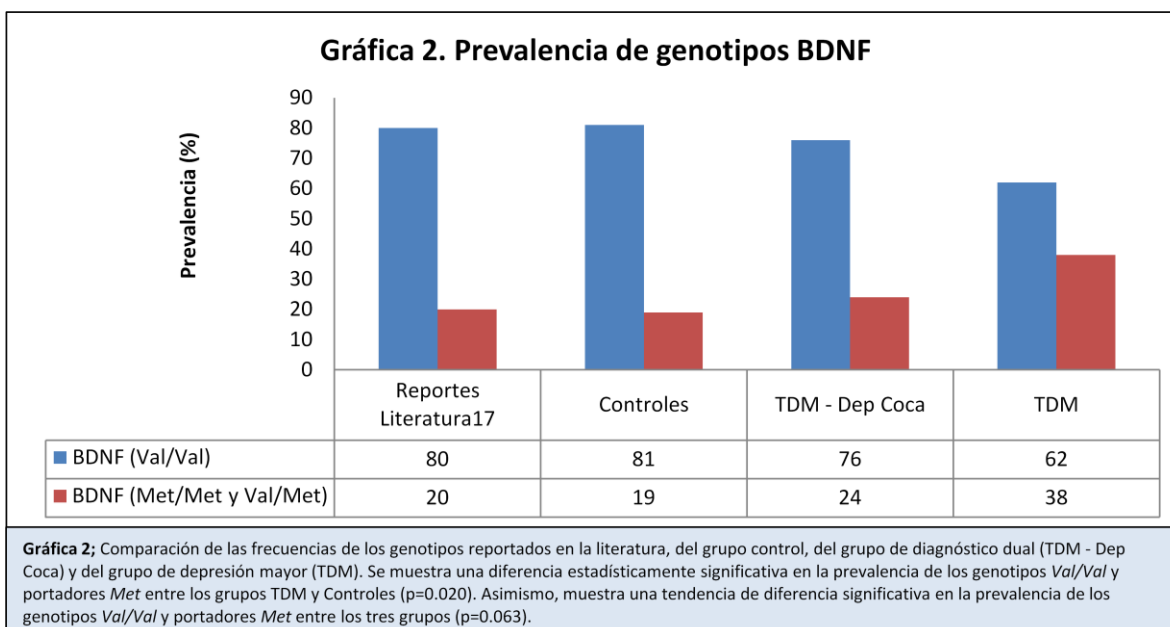
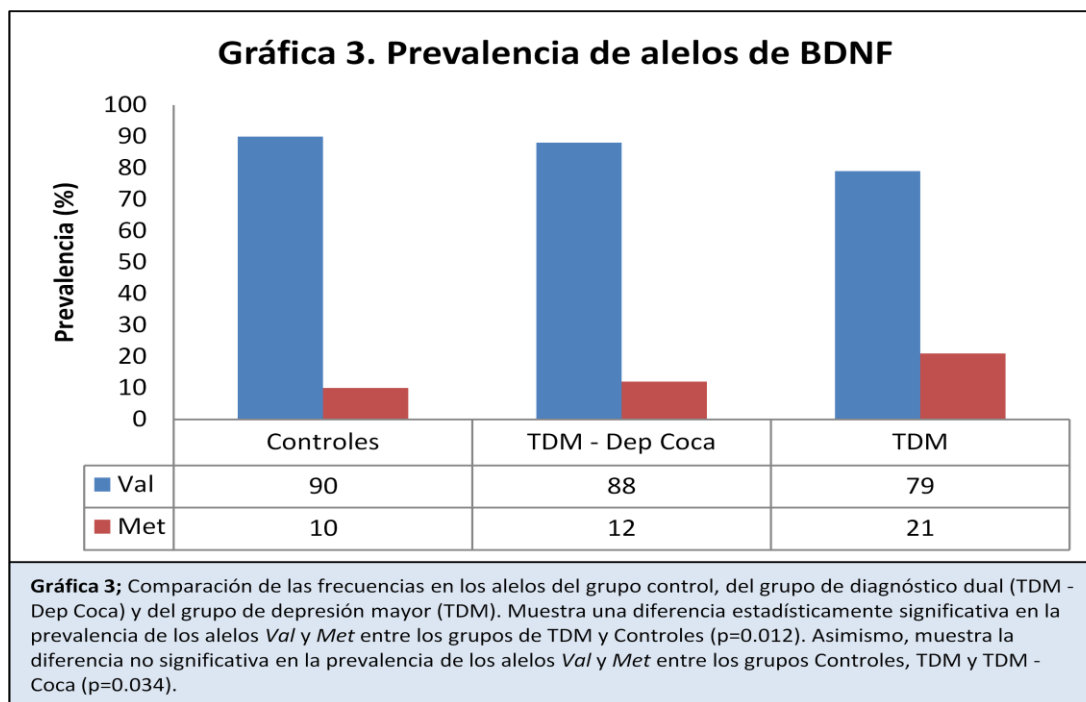


Tabla 6. Prevalencia de alelos BDNF n (%)

	Controles	TDM - Dep Coca	TDM
Val (BDNF)	146 (90)	74 (88)	84 (79)
Met (BDNF)	16 (10)	10 (12)	22 (21)
Total n (%)	162 (100)	84 (100)	106 (100)
Comparación de Grupos			
Grupos	Chi ²	DF	valor p
Controles vs TDM - Dep Coca	.241	1	0.601
Controles vs TDM	6.231	1	0.012*
TDM vs TDM - Dep Coca	2.621	1	0.105
Controles vs TDM vs TDM - Dep Coca	6.719	2	0.034**

Tabla 6; Comparación de las frecuencias alélicas del grupo control, del grupo de diagnóstico dual (TDM - Dep Coca) y del grupo de depresión mayor (TDM). El * muestra una diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia de los alelos *Val* y *Met* entre los grupos de TDM y Controles. Asimismo, ** muestra la diferencia significativa en la prevalencia de los alelos *Val* y *Met* entre los grupos Control, TDM y TDM - Coca.



Por otra parte, no se encontró asociación entre los genotipos específicos del gen BDNF con las siguientes variables intra-grupo: edad del primer episodio depresivo mayor, el número de episodios depresivos mayores previos, intentos suicidas previos, antecedente familiar positivo para depresión y dependencia a sustancias, así

como con comorbilidad con uno, o dos o más diagnósticos en eje I. Debe hacerse notar que éste análisis fue al interior de cada uno de los grupos, como se resume en la Tabla 7.

Tabla 7. Asociación de variables clínicas relevantes con frecuencias genotípicas del gen BDNF

Variables		TDM				TDM - Coca			
		Val/Val	*Portadores Met's	Total	Valor	Val/Val	*Portadores Met's	Total	Valor
Edad de primer EDM	<M	17	13	30	Chi ² 0.992, DF 1, p=.336	17	7	24	Chi ² 0.886, DF 1, p=.346
	>M	16	7	23		15	3	18	
	Total	33	20	53		32	10	42	
Número de EDM previos	<M	20	12	32	Chi ² 0.288, DF 1, p=.591	11	3	14	Chi ² 0.007, DF 1, p=.933
	>M	7	6	13		8	2	10	
	Total	27	18	45		19	5	24	
Antecedente de IS durante algún EDM previo	Si	10	7	17	Chi ² 0.126, DF 1, p=.722	11	1	12	Chi ² 2.218, DF 1, p=.136
	No	23	13	36		21	9	30	
	Total	33	20	53		32	10	42	
AHF Psiquiátricos (TDM)	Si	10	10	20	Chi ² 2.056, DF 1, p=.151	5	0	5	Chi ² 1.774, DF 1, p=.182
	No	23	10	33		27	10	37	
	Total	33	20	53		32	10	42	
AHF Psiquiátricos (Dependencia)	Si	13	9	22	Chi ² 0.161, DF 1, p=.688	22	8	30	Chi ² 0.473, DF 1, p=.491
	No	20	11	31		10	2	12	
	Total	33	20	53		32	10	42	
Comorbilidad con UN diagnóstico en eje I	Si	6	4	10	Chi ² 0.027, DF 1, p=.869	13	1	14	Chi ² 3.216, DF 1, p=.072
	No	27	16	43		19	9	28	
	Total	33	20	53		32	10	42	
Comorbilidad con DOS O MÁS diagnósticos en eje I	Si	7	3	10	Chi ² 0.314, DF 1, p=.575	10	3	13	Chi ² 0.006, DF 1, p=.938
	No	26	17	43		22	7	29	
	Total	33	20	53		32	10	42	

Tabla 7: Se comparan las frecuencias de los genotipos Val/Val y *Portadores Met's (Val/Met y Met/Met) con diferentes variables clínicas de interés. No hay diferencias estadísticas en las frecuencias de las variantes del gen BDNF en las variables clínicas. (<M; sujetos con valores por debajo del promedio, >M; sujetos con valores por arriba del promedio)

Al realizar el análisis entre grupos, encontramos una diferencia estadísticamente significativa (Chi² 5.634, DF 1, p=.017) a favor del genotipo homocigoto *Val/Val* en el grupo de diagnóstico dual para la variable de antecedente heredo-familiar de dependencia a sustancias [AHF Psiquiátricos (Dependencia)]. Continuando el análisis entre grupos, encontramos una diferencia estadísticamente significativa (Chi² 3.956, DF 1, p=.046) a favor de la

presencia del genotipo *Val/Val* en el grupo de TDM, para la ausencia de comorbilidad en la variable clínica de comorbilidad con un diagnóstico adicional en eje I.

Tabla 8. Asociación de variables clínicas relevantes del consumo de sustancias con frecuencias genotípicas del BDNF					
Variables		TDM			Valor
		Val/Val	Portadores Met's	Total	
Edad de inicio del consumo	<M	20	7	27	Chi ² 0.187, DF 1, p=.665
	>M	12	3	15	
	Total	32	10	42	
No. RECAIDAS TRAS ABSTINENCIA >1 MES	<M	22	8	30	Chi ² 0.473, DF 1, p=.491
	>M	10	2	12	
	Total	32	10	42	
ABSTINENCIA MAS CORTA (MESES)	<M	30	9	39	Chi ² 0.162, DF 1, p=.687
	>M	2	1	3	
	Total	32	10	42	
ABSTINENCIA MAS LARGA (MESES)	<M	24	9	33	Chi ² 1.018, DF 1, p=.312
	>M	8	1	9	
	Total	32	10	42	
CONSUMO HABITUAL POR OCASIÓN (gr)	<M	21	10	31	Chi ² 4.657, DF 1, p=.030
	>M	11	0	11	
	Total	32	10	42	
CONSUMO MAXIMO POR OCASIÓN (gr)	<M	20	7	27	Chi ² 0.187, DF 1, p=.665
	>M	12	3	15	
	Total	32	10	42	
FRECUENCIA DE CONSUMO HABITUAL	Una o más veces al día	10	3	13	Chi ² 0.006, DF 1, p=.938
	Menos de seis veces por semana	22	7	29	
	Total	32	10	42	
FRECUENCIA DE CONSUMO MAXIMA	Una o más veces al día	24	7	31	Chi ² 0.099, DF 1, p=.753
	Menos de seis veces por semana	8	3	11	
	Total	32	10	42	
Dependencia actual (durante el último año) de sustancias	Una sustancia	19	1	20	Chi ² 7.447, DF 1, p=.006*
	Más de una sustancia	13	9	22	
	Total	32	10	42	
Dependencia a lo largo de la vida (previo al último año) de sustancias	Una sustancia	10	2	12	Chi ² 0.473, DF 1, p=.491
	Más de una sustancia	22	8	31	
	Total	32	10	42	

Tabla 8; Se comparan las frecuencias de los genotipos Val/Val y Portadores Met's (Val/Met y Met/Met) en diferentes variables clínicas del consumo de sustancias. *Se encontró distribución estadísticamente no equitativa en las frecuencias de los variantes del gen BDNF en la variable clínica de dependencia en el último año de una o más de una sustancias.
(<M; sujetos con valores por debajo del promedio, >M; sujetos con valores por arriba del promedio)

En relación con las variables más relevantes del consumo de sustancias y los genotipos del BDNF, en el grupo de TDM en comorbilidad con dependencia a cocaína, tampoco se encontró la presencia de distribución no equitativa de los genotipos para las mismas, excepto; en dependencia a sustancias en el último año, dónde se encontró una frecuencia mayor del genotipo *Val* en sujetos con dependencia a una sustancia comparado con los sujetos con dependencia a más de una sustancia (Chi^2 7.447, DF 1, $p=.006$). (Tabla 8)

Las características de los individuos con un trastorno por uso de sustancias (abuso o dependencia) añadidas a las características de personalidad de cada uno de ellos limitaron la captación de una muestra clínica más grande. Sin embargo, cabe mencionar que se logró un 84% del total de sujetos propuestos inicialmente para éste grupo.

7. DISCUSIÓN.

A la fecha, la identificación de los genes asociados a enfermedades complejas como la depresión y la dependencia a sustancias ha representado todo un reto científico, en el que ha sido necesario desarrollar nuevas y más potentes tecnologías de tipificación molecular, la aplicación de novedosos diseños experimentales, así como el empleo de técnicas analíticas y estadísticas sofisticadas. En este sentido, diversas evidencias tanto teóricas como experimentales, han privilegiado el uso de los estudios genéticos de asociación, como el que en este caso empleamos.^{42,35,43}

Los objetivos más específicos de este proyecto se relacionaron con la descripción de las frecuencias alélicas de una variante polimórfica del gen que codifica a la proteína BDNF en un grupo de pacientes con depresión mayor y uno con diagnóstico dual (depresión y dependencia a cocaína), para establecer su posible asociación con la presencia de los mismos trastornos y sus variables clínicas relevantes. Nuestra hipótesis de trabajo derivada de los estudios previos publicados, fue que se esperaba asociar al alelo *Val* del gen con una vulnerabilidad genética

para el desarrollo de dependencia a cocaína en pacientes con depresión, en tanto que se esperaba asociar al alelo *Met* con el trastorno depresivo y características de mayor gravedad del mismo.

De ésta forma y con respecto a la hipótesis 1; no se encontró como se anticipaba, una diferencia estadística en las frecuencias del genotipo *Val/Val* al comparar los grupos de diagnóstico dual vs TDM, ni en relación a los controles sanos. Dado que no existen reportes en la literatura sobre la frecuencia observada de los alelos y genotipos de este polimorfismo en pacientes duales (y menos aún de poblaciones mestizas de América Latina como las que conforman nuestros grupos de estudio) es imposible establecer el impacto de esta observación. Continuando con el análisis del alelo *Val*, se observó una diferencia estadísticamente significativa a favor de una menor frecuencia de los genotipos *Val/Val* (y por lo tanto, un incremento en los genotipos portadores de *Met* [*Val/Met* y *Met/Met*]) en los sujetos con trastorno depresivo comparado con los controles sanos, lo cual es congruente con nuestra hipótesis original. En un ejercicio adicional que realizamos, en donde se añadieron más sujetos controles sanos (considerados a partir de reportes de la literatura; Chen ZY y cols, 2004) lo que permitió elevar a 181 el número de individuos no afectados y más sujetos deprimidos (añadiendo datos adicionales de 58 pacientes proporcionados amablemente por la Dra. Gabriela Armas) permitió alcanzar una *n* final de 111 sujetos deprimidos; la asociación significativa de menores frecuencias de los genotipos *Val/Val* en el grupo de depresión comparado contra sujetos controles sanos se sostuvo ($\text{Chi}^2=6.632$, DF 1, $p=0.010$).

Al realizar el sub-análisis entre grupos, en la variable de antecedente heredo-familiar para dependencia a sustancias, encontramos una diferencia estadísticamente significativa a favor del alelo *Val* en el grupo con diagnóstico dual y el antecedente positivo. En relación a este hallazgo podemos decir, que la agregación familiar de abuso/dependencia a drogas puede ser atribuible tanto a factores genéticos como ambientales y puede tener influencia en el desarrollo de los trastornos por uso de sustancias. Los factores genéticos podrían influenciar en la vulnerabilidad para el desarrollo de los trastornos por uso de sustancias a través de diferencias individuales, en el efecto de las drogas por sí mismas, diferencias en el metabolismo, sensibilidad, tolerancia, efectos adversos y efectos cognitivos o psicológicos (como disminución de estados depresivos, de ansiedad o

estrés). Merikangas et al. (1998) reportó que existe un riesgo 8 veces mayor para trastornos por uso de sustancias entre familiares de probandos con estos trastornos, e incluso sugirió que el alcoholismo y otros trastornos por uso de sustancias parecen representar un *continuum* de severidad. Esto es, que existe un aumento directo en las tasas de trastornos por uso de sustancias entre familiares con niveles crecientes de "desviación" de trastornos por sustancias en los probandos, que van desde el alcoholismo (4% en los familiares), al cannabis (8% en los familiares), a la cocaína (10% en familiares), abuso/dependencia de opiáceos (15% en los familiares) en comparación con el 1% entre los familiares de sujetos control. Nosotros encontramos que el grupo de diagnóstico dual tiene un antecedente familiar positivo para dependencia a sustancias en el 79%, de los cuales el 59% correspondió a dependencia a alcohol, lo cual está por arriba de lo reportado por Merikangas, así como de los reportes epidemiológicos en nuestra población (Caraveo et al. 2005). La prevalencia tan alta de dependencia a sustancias en los familiares del grupo de diagnóstico dual sugiere una poderosa agregación familiar que podría hablar de una relevancia del alelo valina, sin embargo, la metodología utilizada en este estudio no permite descartar otros factores además del genético para estar involucrados.

En relación con la hipótesis 2; asumíamos que la presencia de los alelos *Met* sería mayor en el grupo de TDM comparado con el grupo de diagnóstico dual. Esto se basa en los reportes de estudios previos dónde se ha encontrado asociación entre trastornos afectivos y la variabilidad del gen BDNF, particularmente con el SNP *rs6265* (*Val66Met*, objeto de nuestro análisis). Por ejemplo, Schumacher et al. (2005) mostró una asociación positiva a nivel de haplotipo para el gen (*rs988748*, GT; y *rs6265*, *Val66Met*) y el trastorno depresivo. En el trastorno bipolar se ha observado que el SNP *Val66Met*, probablemente a través del alelo *Met*, sea un factor de protección para manifestar la enfermedad o represente un factor de prevención para episodios de recurrencia. Sin embargo, en estudios en población China no se pudo establecer si la variante *rs6265* del gen BDNF es un factor de riesgo para depresión mayor.^{37,50}

Recientemente Ribeiro et al. (2007), mostró que en sujetos definidos como México-Americanos se observó asociación del SNP *Val66Met* con depresión mayor, asimismo, en sujetos homocigotos *Val/Val* había un aumento en el riesgo para presentar la depresión (OR=1.7, ^{95%}IC 1.17-2.47).

Por otra parte otros estudios han mostrado una asociación positiva entre el alelo *Met* del gen de BDNF, con varios otros trastornos mentales como adicción a nicotina, los trastornos de alimentación y el trastorno obsesivo-compulsivo, así como otras condiciones neuropsiquiátricas como la enfermedad de Parkinson o Alzheimer.^{17,31}

En relación con nuestros resultados, como se mencionó previamente, parece haber una mayor frecuencia de alelos *Met* en sujetos con TDM comparado con controles sanos. La fisiopatología de éste hallazgo puede resumirse en la figura 1.

A pesar de estos datos conflictivos en la literatura podemos intentar elucubrar sobre el posible papel que podría tener la variabilidad de este gen en relación a la depresión (ver modelo en la Figura 1). Primero, se sabe que el procesamiento de la proteína BDNF a través de sus vías de biosíntesis es complejo y altamente regulado (aunque los posibles mecanismos moleculares son objeto de importante investigación). Se ha descrito por ejemplo que en las células neuronales la sustitución del aminoácido *Val* por el de *Met* causa una reducción en la secreción regulada de la proteína intracelular de BDNF (que es la principal forma de liberación de este factor), lo cual provocaría una disminución en la cantidad extracelular de este factor trófico y limitando a su vez sus efectos funcionales. Asimismo, estudios de secreción y microscopia de inmunofluorescencia en modelos celulares han mostrado evidencia que el procesamiento de la proteína es distinto según el tipo de las variantes que se co-expresan. Por ejemplo, se ha descrito que cuando se intentan co-expresar los dos distintos alelos, más del 70% de las proteínas BDNF se encuentra en la forma de heterodímeros $BDNF_{Val}-BDNF_{Met}$. Así, estos estudios proveen un acercamiento de cómo la presencia de una copia del gen $BDNF_{Met}$ puede originar una disminución en la cantidad total del BDNF liberado de las células en forma dependiente de actividad. Esta

disminución en la secreción regulada del BDNF pudiera explicar los déficits conductuales observados en humanos heterocigotos *Val/Met* y homocigotos *Met* portadores de alguno de los trastornos mencionados anteriormente (i.e. depresión mayor).^{5,17}

Segundo; aunque los resultados obtenidos de nuestro proyecto no lograron mostrar una asociación estadística de la posible influencia genética del alelo *Val* para el riesgo de adicción a cocaína en las personas con depresión, *teóricamente* como se comentó en la introducción, las variantes polimórficas del gen BDNF podrían influir en la susceptibilidad al abuso o dependencia de sustancias afectando los sistemas de neurotransmisión, como el dopaminérgico.²¹ Como es sabido, el BDNF ha demostrado aumentar el efecto de agonistas dopaminérgicos en los resultados de estudios donde en modelos animales la infusión de BDNF en el VTA indujo aumento a largo plazo de las conductas de búsqueda a cocaína.¹⁵ Entonces, es posible considerar que probablemente los sujetos portadores del genotipo *Val/Val* tengan niveles mayores de BDNF central comparado con los portadores de los alelos *Met*, y entonces éstos tengan efectos euforizantes más altos enseguida de la administración de estimulantes (i.e. cocaína) haciéndolos más vulnerables al abuso o desarrollo de dependencia a éstos.

Tercero; relacionado a lo anterior, en nuestros resultados tampoco se logró observar una asociación estadística de los genotipos del gen BDNF y las variables clínicas de la depresión y la dependencia a cocaína. Sin embargo, en una situación fisiopatológica y clínica semejante a lo que esperábamos observar en nuestra muestra y los resultados, se podría especular que el aumento en la disponibilidad del BDNF probablemente dependiente de la presencia de ambos alelos *Val*, podría a los sujetos deprimidos homocigotos a éste alelo tener *características de depresión más benignas*, como por ejemplo; en menor vulnerabilidad para presentar episodios depresivos y a la vez, en caso de tenerlos, que estos se presenten en menor número, o como se observó, que presenten menores puntajes en los instrumentos clinimétricos que valoran la gravedad de los síntomas depresivos y ansiosos.

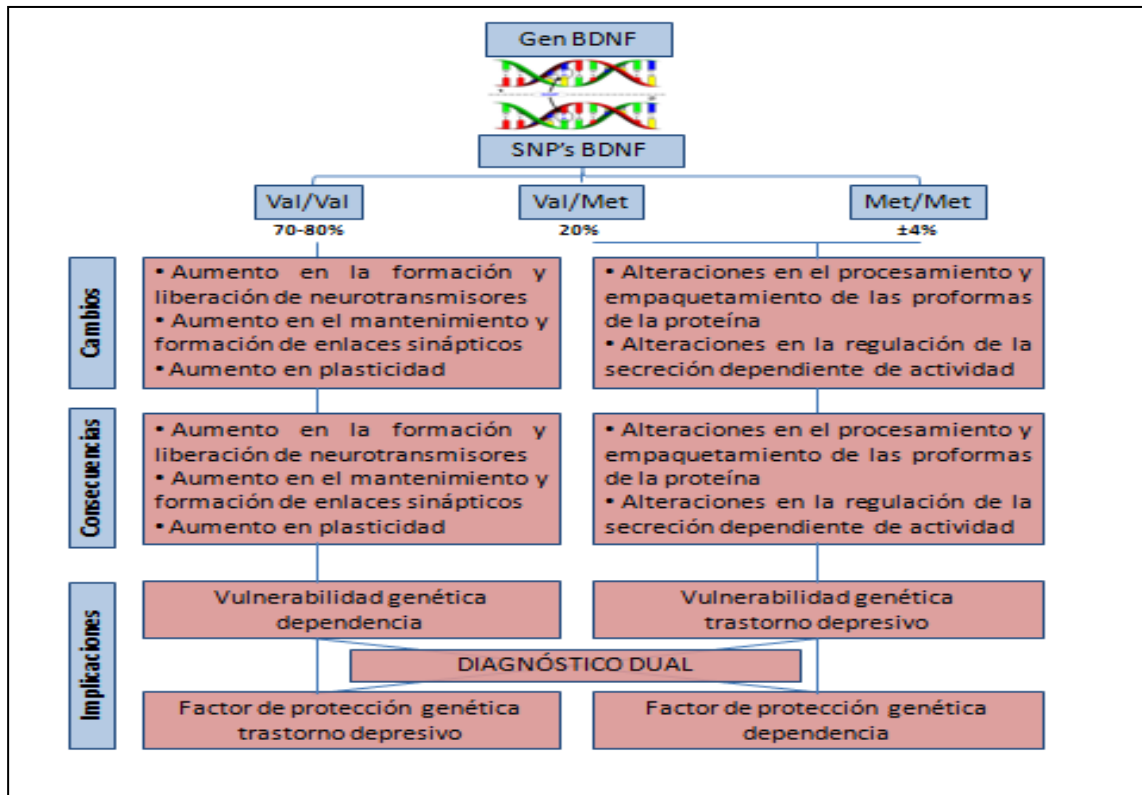


Figura 1. Se muestra nuestro modelo propuesto de relación del gen BDNF y sus variantes polimórficas, con: los **cambios** en procesamiento, empaquetamiento y regulación de su secreción; las **consecuencias** funcionales y morfológicas, y; las **implicaciones** como factores de vulnerabilidad y protección genética para la depresión y dependencia a cocaína.

Dentro de las limitaciones de este trabajo se pueden mencionar; a) que a pesar de las virtudes de los estudios de asociación alélica, estos tienen el riesgo intrínseco de generar resultados inciertos, debido en parte al denominado efecto de «*estratificación poblacional*», particularmente evidente en el diseño experimental en que se contrastan las frecuencias alélicas observadas entre grupos de sujetos que presentan una condición de interés (casos), en comparación con aquellos que no la presentan (no casos o controles); b) que existan diferencias en las frecuencias alélicas relacionadas con el sexo de los probandos, derivado de la inversión en los porcentajes de mujeres y hombres en los grupos de comparación, en relación a esto cabe mencionar que la prevalencia a lo largo de la vida para TDM se encuentra en una relación mujer:hombre, 2:1 y la prevalencia a lo largo de la vida para dependencia a cocaína se encuentra en una relación hombre:mujer, 4:1, asimismo la

población clínica que acude a nuestra institución podría semejar estas proporciones; c) que el tamaño de la muestra es pequeño, y; d) que la información clínica de la intensidad de consumo de cocaína y curso de la dependencia se basó en la percepción subjetiva de consumo y del tiempo de evolución de cada sujeto del grupo comparativo, lo cual genera un sesgo de recuerdo.

Finalmente, a nuestro conocimiento éste es el primer reporte en el que se comparan las frecuencias alélicas y genotipos de las variantes polimórficas del gen BDNF en un grupo de sujetos con depresión mayor además de un grupo de sujetos con depresión mayor en comorbilidad con dependencia a cocaína y un grupo de sujetos sanos como controles. También, cabe señalar que estos son los primeros datos reportados de las frecuencias alélicas del gen BDNF en la población mexicana, los cuales podrían servir para establecer futuras comparaciones con otras muestras clínicas.

8. CONCLUSIONES.

En conclusión, la asociación positiva observada entre el alelo *Met* del gen BDNF y el trastorno depresivo, podría ayudar a ampliar la información que se tiene de los datos obtenidos en otras investigaciones y apoya la idea de ser un posible marcador de riesgo genético de este trastorno. Sin embargo, es importante subrayar que la presencia del alelo *Met* no debe de ser interpretado como la de un marcador de la enfermedad misma.

Estos resultados pueden ayudar, en parte, a intentar desmenuzar los múltiples y complejos mecanismos que subyacen al desarrollo de un trastorno dual, a través de una molécula relacionada con cambios de neuroplasticidad y sobrevida neuronal. Entonces, los hallazgos subrayan la necesidad de mayor investigación para fortalecer el conocimiento sobre los posibles factores genéticos asociados a una vulnerabilidad para depresión mayor en comorbilidad con dependencia a cocaína, diseño de estudios de cohortes que permiten controlar mejor las variables y aumentar el tamaño de muestra, lo que permite encontrar asociaciones entres

probables factores genéticos (de efectos pequeños y moderados) y las variables clínicas que observamos en la práctica cotidiana.

9. REFERENCIAS.

1. Tsai SJ. **Increased central brain-derived neurotrophic factor activity could be a risk factor for substance abuse: Implications for treatment.** Med Hypotheses. (2007) 68, 410-414.
2. Angelucci F, Brene S y Mathe A. **BDNF in schizophrenia, depression and corresponding animal models.** Molecular Psychiatry. (2005) 10, 345-352.
3. Egan M, et.al. **The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function.** Cellular/Molecular. (2003) 112, 112-269.
4. Lang U, et.al. **Association of the met66 allele of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) with smoking.** Psychopharmacology. (2007) 190, 433-439.
5. Uhl G, et.al. **Polysubstance abuse-vulnerability genes: genome scans for association, using 1,004 subjects and 1,494 single-nucleotide polymorphisms.** Am J of Hum Genetics. (2001) 69, 1290-130.
6. Schoenbaum G, Stalnaker T, Shaham Y. **A role for BDNF in cocaine reward and relapse.** Nature neuroscience. (2007) 8, 935-936.
7. Chen ZY, et.al. **Variant Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) (Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons.** Cellular/Molecular. (2004) 18, 4401-4411.
8. Martinowich K, Manji H, Lu B. **New insights into BDNF function in depression and anxiety.** Nature neuroscience. (2007) 10, 1089-1093.
9. Yudofsky S, Hales R. **Essentials of neuropsychiatry and clinical neurosciences.** American Psychiatric Publishing, Inc. (2004), 399-420.
10. Janak P, et.al. **Big news in alcohol addiction: new findings on growth factor pathways BDNF, Insulin and GDNF.** Alcohol Clin Exp Res. (2006) 30, 214-221.
11. Licinio J & Wong ML. **Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in stress and affective disorders.** Molecular Psychiatry. (2002) 7, 519.
12. Gervasoni N, et.al. **Partial normalization of serum brain-derived neurotrophic factor in remitted patients after a major depressive episode.** Neuropsychobiology. (2005) 51, 234-238.
13. Campbell S, MacQueen G. **The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression.** J Psychiatry and Neurosci. (2004) 29, 417-426.
14. Vallejo J, Leal C. **Tratado de psiquiatría.** Ars Médica. (2008), 741-749.
15. Narsimha R, et.al. **MINI International Neuropsychiatric Schedule: clinical utility and patient acceptance.** European Psychiatry. (2003);18(7):361-364.

16. Sheehan DV, et al. **The Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI): the development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10.** Journal of Clinical Psychiatry (1998); 59 (Suppl 20): 22-23, 34-57.
17. First MB, et.al. **User's guide for the Structured Clinical Diagnostic Interview for DSM-IV Axis II Disorders (SCID-II).** Washington, DC: American Psychiatric Press; (1997).
18. Hamilton M. **A rating scale for depression.** Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry (1960); 23: 56-62.
19. Montgomery SA, Asberg M. **A new depression rating scale designed to be sensitive to change.** British Journal of Psychiatry. (1979); 134: 382-289.
20. Martínez R, Bourgeois M, Peyre F. **Estudio de la validación de la escala de depresión de Montgomery y Asberg.** Revista Asociación Española de Neuropsiquiatría. (1991); 11: 9-14.
21. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. **An inventory for measuring depression.** Archives of General Psychiatry. (1961); 4: 561-571.
22. Hamilton M. **The assessment of anxiety states by rating.** British Journal of Medical Psychology. (1959); 32: 50-55.
23. Sadock BJ, et.al. **Synopsis of Psychiatry.** Wolters-Kluwer. (2009); 10 ed: 527-68.
24. Mahoney JJ, et.al. **A qualitative and quantitative review of cocaine-induced craving: The phenomenon of priming.** Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry. (2007); 31: 593-599.
25. Bohnert ASB & Miech RA. **Changes in the association of drug use with depressive disorders in recent decades: The case of cocaine.** Substance Use & Misuse. (2010); 45: 1452-1462.
26. Woo NH, et.al. **Activation of p75^{NTR} by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression.** Nature Neuroscience. (2005); 8: 1069-1077.
27. McGinthy JF, Whitfield TW & Berglind WJ. **Brain-derived neurotrophic factor and cocaine addiction.** Brain Research. (2010); 1314: 183-193.
28. Eisch AJ, et.al. **Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain-nucleus accumbens pathways: A role in depression.** Biol Psychiatry. (2003); 54: 994-1005.
29. Otsuki K, et.al. **Altered expression of neurotrophic factors in patients with major depression.** Journal of Psychiatric Research. (2008); 42: 1145-1153.
30. Corominas M, et.al. **Brain-derived neurotrophic factor and its intracellular signaling pathways in cocaine addiction.** Neuropsychobiology. (2007); 55: 2-13.
31. Bekinschtein P, et.al. **BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage.** PNAS. (2008); 105: 2711-2716.

32. Lang UE, Hellweg R & Galliant J. **Association of BDNF serum concentrations with central serotonergic activity: Evidence from auditory signal processing.** *Neuropsychopharmacology.* (2005); 30: 1148-1153.
33. Gatt JM, et.al. **Interactions between BDNF Val66Met polymorphism and early life stress predict brain and arousal pathways to syndromal depression and anxiety.** *Molecular Psychiatry.* (2009); 14: 681-695.
34. Tamminga CA. **Elucidación del papel del factor de crecimiento derivado del cerebro.** *Am J Psychiatry.* (2008); 11: 26.
35. Schork NJ, et.al. **Common vs rare allele hypotheses for complex disease.** *Current Opinion in Genetic & Development.* (2009); 19: 212-219.
36. Gong P, et.al. **Effect of BDNF Val66Met polymorphism on digital working memory and spatial localization in a healthy Chinese Han population.** *J Mol Neurosci.* (2009); 38: 250-256.
37. Martinowich K & Lu B. **Interactions between BDNF and serotonin: Role in mood disorders.** *Neuropsychopharmacology.* (2008); 33: 73-83.
38. Faraone SV, et.al. **Familial transmission of derived phenotypes for molecular genetic studies of substance use disorders.** *Drug Alcohol Depend.* (2008); 92: 100-107.
39. Hünnerkopf R, et.al. **Interaction between BDNF Val66Met and Dopamine transportes gene variation influences anxiety-related traits.** *Neuropsychopharmacology.* (2007); 32: 2552-1560.
40. **Encuesta Nacional de Adicciones 2002.** Consejo Nacional Contra las Adicciones-Instituto Nacional de Salud Pública.
41. **Encuesta Nacional de Adicciones 2008.** Consejo Nacional Contra las Adicciones-Instituto Nacional de Salud Pública.
42. Groves JO. **Is time to reassess the BDNF hypotheses of depression?.** *Molecular Psychiatry.* (2007); 12: 1079-1088.
43. Martínez GA, Vásquez JA & Cruz CS. **La variabilidad del genoma del mexicano. Implicaciones y perspectivas para la investigación en psiquiatría genética en México.** *Salud Mental.* (2010); 33: 172-280.
44. Sen S, Duman R & Sanacora G. **Serum BDNF, depression and anti-depressant medications: Meta-analyses and implications.** *Biol Psychiatry.* (2008); 64: 527-532.
45. Conner KR, Pinquart M & Holbrook AP. **Meta-analyses of depression and substance use and impairment among cocaine users.** *Drug Alcohol Depend.* (2008); 98: 13-23.
46. Briand LA & Blendy JA. **Molecular and genetic substrates linking stress and addiction.** *Brain Resaerch.* (2010); 1314: 219-234.
47. Thomas MJ, Kalivas PW & Shaham Y. **Neuroplsticity in the mesolímbic dopamine system and cocaine addiction.** *British J of Pharmacology.* (2008); 154: 327-342.
48. Carvalho AL, et.al. **Role of the brain-derived neurotrophic factor at the glutamatergic synapses.** *British J of Pharmacology.* (2008); 153: 5310-5324.

49. Petryshen TL, et.al. **Population genetic study of the brain derived neurotrophic factor (BDNF) gen.** *Molecular Psychiatry.* (2010); 15: 810-815.
50. Ribeiro L, et.al. **The brain-derived neurotrophic factor rs6265 (Val66Met) polymorphism and depression in Mexican-Americans.** *Neuroreport.* (2007); 18: 1291-1293.
51. Savitz J, Solms M & Ramesar R. **The molecular genetics of cognition: dopamine, COMT and BDNF.** *Genes, Brain & Behavior.* (2005); 5: 311-328.
52. Lu B, Pang PT & Woo NH. **The yin and yang of neurotrophin action.** *Nature Reviews Neuroscience.* (2005); 6: 603-614.
53. Roh MS, et.al. **Up-regulation of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) in the rat nucleus accumbens after repeated electroconvulsive shock.** *Neuroscience Research.* (2009); 65: 210-213.
54. Bath KG & Lee FS. **Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function.** *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience.* (2006); 6: 79-85.
55. Medina-Mora ME, et.al. **Prevalencia de los trastornos mentales y el uso de servicios: Resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México.** *Salud Mental.* (2003); 26: 1-16.