



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA
“RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ”

PROYECTO DE TESIS PARA EL CURSO DE ESPECIALIDAD EN PSIQUIATRÍA
**Relación de los cronotipos y sus variantes genéticas sobre la
constitución corporal en adolescentes con psicopatología**

TESISTA:

DR. ALFONSO CABRERA LAGUNES

TUTORES:

Dr. Francisco de la Peña Olvera

Tutor Teórico

Dr. Lino Palacios Cruz

Tutor Metodológico

Ciudad de México

24/Mayo/2018



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.

Tabla de contenido

| | |
|---|-----------|
| I. Resumen Ejecutivo | 5 |
| Relación de los cronotipos y sus variantes genéticas sobre la constitución corporal en adolescentes con psicopatología | 5 |
| II. Marco teórico. | 7 |
| Epidemiología del Sobrepeso y la Obesidad en el Mundo. | 7 |
| Epidemiología del Sobrepeso y la Obesidad México. | 10 |
| Epidemiología de la Salud Mental en México | 11 |
| Fisiología de la ingesta calórica y los ritmos circadianos | 12 |
| El sistema circadiano | 13 |
| La alimentación como sincronizador de los ritmos biológicos | 16 |
| Regulación fisiológica del balance energético | 17 |
| Expresión génica relacionada con los cronotipos y la constitución corporal | 18 |
| Relación de obesidad estudios de ligamiento genético | 21 |
| Relación entre la obesidad y cronotipos | 22 |
| Sobrepeso, Obesidad y Trastornos Psiquiátricos | 25 |
| Psicopatología y su relación con los ritmos circadianos | 27 |
| Ritmos circadianos, psicopatología, constitución corporal y adolescencia | 29 |
| III. Pregunta de investigación | 33 |
| ¿Cuál es la relación de los cronotipos y sus variantes genéticas sobre la constitución corporal en adolescentes con psicopatología? | 33 |
| IV. Justificación | 33 |
| Hipótesis de la investigación | 34 |
| Hipótesis general | 34 |
| V. Objetivos | 34 |
| Objetivo principal | 34 |
| Objetivos secundarios | 35 |
| Modelo Arquitectónico | 36 |
| VI. Material y métodos | 37 |
| Tipo de estudio | 37 |
| Población en estudio y tamaño de la muestra | 37 |
| Criterios de inclusión, exclusión y eliminación | 37 |
| Métodos de recolección de datos | 39 |
| Descripción de las variables | 45 |
| VII. Consideraciones éticas | 51 |
| VIII. Resultados | 52 |
| Descripción de la población | 52 |
| Descripción de los antecedentes de psicopatología | 55 |
| Descripción de los cronotipos y frecuencias alélicas del Gen CLOCK T3111C | 58 |
| Descripción de la asociación de las frecuencias de cronotipos, polimorfismos del gen CLOCK T3111C, variables clínicas y de laboratorio en adolescentes con psicopatología | 59 |
| IX. Discusión | 65 |

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| X. Conclusiones | 69 |
| ANEXO 1 (Metodología genética) | 70 |
| ANEXO 2. (Gráficos) | 76 |
| Flujograma de trabajo | 83 |
| Bibliografía | 84 |

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer con el presente escrito a todos los que contribuyeron con este trabajo de tesis, en primer lugar con una enorme admiración quiero agradecer al Dr. Lino Palacios y al Dr. Francisco de la Peña, por su gran apoyo, consistente paciencia y compromiso con mi formación. Por su amistad, guía y consejo ante los momentos adversos de la vida, gracias por brindarme otra perspectiva. También agradezco al Dr. Carlos S. Cruz, Amado Pérez y a la MS. Adriana Arías por su compromiso y perseverancia ante el trabajo. A la Dra. Adriana Díaz por su ayuda y tutoría para integrar y producir el conocimiento generado de este proyecto.

Agradezco a todos los que colaboraron con la generación y recolección de los datos en particular a las Doctoras Liz Sosa y Miriam Feria, gracias por su trabajo, retroalimentación y asesoría clínica.

También quiero reconocer a mi madre María Luisa, a la cual le debo todo, no solo la vida, sino la lucha y compromiso por la familia. A mi hermana Karen por su amistad y cariño.

A mis eternos amigos, que sin importar tiempo y espacio se encuentran conmigo para brindarme su apoyo y consejo.

Le agradezco a mi amada Giselle, por su compañía, apoyo incondicional y fortaleza prestada.

I. Resumen Ejecutivo

Relación de los cronotipos y sus variantes genéticas sobre la constitución corporal en adolescentes con psicopatología

La relación de la constitución corporal con la psicopatología se ha documentado en distintos estudios, sin embargo, la información disponible aún es limitada sin tomar en cuenta la falta de estudios poblacionales en niños y adolescentes sanos en nuestro país. Por ejemplo, en la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica, en la cual se señala que el 50% de los trastornos mentales inician antes de los 21 años de edad y los trastornos más recurrentes entre adolescentes son problemas de aprendizaje, retraso mental, trastornos de ansiedad y trastorno por déficit de atención, depresión y trastorno por uso de sustancias, así como intentos de suicidio, aunque no reportaron la constitución corporal de la muestra, o si ambas estaban relacionadas; así mismo en la Encuesta Nacional de Salud (ESANUT) 2012 [1] reportaba la prevalencia nacional combinada de sobrepeso y obesidad en adolescentes de alrededor de 35.8% para el sexo femenino y 34.1% en el sexo masculino. Aunque dicha encuesta solo se limitaba a describir el porcentaje de trastornos de la conducta alimentaria, sin especificar el tipo de trastorno, siendo descrita en el apartado de Nutrición, no tomaron en cuenta la importancia de la salud mental a nivel Nacional. A pesar de los esfuerzos por registrar el estado nutricional de los niños y adolescentes en México, falta dilucidar su estado psiquiátrico en conjunto y si este tiene relación con su constitución corporal, infiriendo que la misma es el resultado de múltiples factores

relacionados, tales como el estado sociocultural, la carga genética, la psicopatología así como los distintos ritmos circadianos manifestados en los cronotipos en conjunto con expresiones génicas particulares. Hasta donde conocemos, no se cuenta con información actual en la que las variables previamente expuestas hayan sido estudiadas en conjunto.

II. Marco teórico.

Epidemiología del Sobrepeso y la Obesidad en el Mundo.

El sobrepeso y la obesidad constituye un gran problema de salud pública y su prevalencia se encuentra en constante aumento en el conjunto de los países industrializados. El sobrepeso y la obesidad puede ser evaluada por el índice de masa corporal (IMC), aunque 41% de los hombres y 32 % de las mujeres son falsos negativos utilizando el IMC, así mismo se utiliza la circunferencia de cintura: mujeres: >88 cm; hombres, >102 cm, la cual puede ser usada para predecir grasa corporal; aunque la correlación entre el IMC y la porcentaje de grasa corporal depende del grupo de edad, sexo y origen étnico y puede variar desde 0.6 to 0.8. Aunque en estudios recientes comentan que es más preciso utilizar fórmulas que utilicen en conjunto pliegues cutáneos, edad y sexo, el error reportado al utilizar pliegues cutáneos en comparación con la densitometría va de 3 a 5%. Así mismo existen una gran variedad maniobras con las cuales se puede evaluar la constitución corporal y cada una con un rango variable de precisión y exactitud. Por ejemplo, la Densitometría (desplazamiento de agua) y la Pletismografía (Desplazamiento de aire). Hasta el momento son las técnicas con mayor precisión en cuanto a la evaluación de la composición corporal, aunque se ven limitadas al contexto de laboratorio o centros especializados por lo que su utilidad se ve restringida. De más amplio uso en el área médica y reproducible en el ámbito hospitalario es la Absorciometría dual de rayos X y la Resonancia Magnética. Para la primera el error reportado varía desde 1 al 3 % en el momento de evaluar el porcentaje de grasa corporal. Siendo más preciso en las extremidades y menor en el

escaneo del cuerpo completo. La segunda puede llegar a ser más precisa que la absorciometría dual de rayos x, pero solo se ha reportado su uso en escaneos a nivel de L4/L5 y no difiere entre tejido adiposo blanco o pardo. [3, 4]

Aunque estas tendrían que validarse primero en la población general antes de ser aplicadas.

En un estudio publicado en el 2016, realizado por la iniciativa global de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para monitorizar aquellos factores de riesgo sobre enfermedades no transmisibles (NCD Risk Factor) por sus siglas en inglés, reportaron las tendencias de IMC en 200 países (incluido México) desde 1975 al 2014; Comentando que la media de IMC global estandarizada por edad aumentó de 21.7 kg/m² (95% intervalo de credibilidad 21.3-22.1) en 1975 a 24.2 kg/m² (24.0-24.4) en el año 2014 en los hombres, y del 22.1 kg/m² (21.7-22.5) en 1975 a 24.4 kg/m² (24.2-24.6) en el año 2014 en las mujeres. Comentando que la prevalencia de obesidad mórbida fue de 0.64% (0.46-0.86) en hombres y 1.6% (1.3-1.9) en mujeres. En relación a lo previo en México la prevalencia de obesidad en hombres en 1975 fue de 0.8 % (2.3 millones) y aumento a 8.9 % (3.3 millones) en el 2014 y de 1.7% (2.4 millones) aumento a 13.9% (3.7 millones) en mujeres. [5]

Si bien los autores del artículo describieron ampliamente las tendencias de IMC en adultos, hacen la acotación del porqué no analizaron a los niños y adolescentes. Primero, debido a que la infancia y la adolescencia son períodos de rápido crecimiento, los puntos de corte para el IMC utilizados para definir bajo peso, son muy diferentes a la de los adultos, y varían según la edad y sexo. Segundo, porqué las

tendencias en tiempo de obesidad para niños y adolescentes es también distinta a la de los adultos.

En la población pediátrica, la Federación Internacional de Diabetes (IDF) toma como criterio de obesidad un IMC mayor a la centila 95, aunque este es un criterio establecido por la CDC.[6]

Es de gran importancia mencionar que para los niños y adolescentes, el IMC no es una herramienta de diagnóstico, aunque se utiliza para detectar los potenciales problemas con el peso y sus relaciones con el estado de salud. Por ejemplo, un niño puede tener un IMC alto para su edad y sexo, pero para determinar si el exceso de grasa es un problema, un proveedor de la salud tendría que realizar nuevas evaluaciones. Estas evaluaciones pueden incluir mediciones de los pliegues cutáneos, evaluaciones de la dieta, actividad física, antecedentes familiares y otros exámenes de salud adecuados. A pesar de la advertencia de la CDC, la Academia Americana de Pediatría recomienda el uso de IMC para detectar el sobrepeso y la obesidad en los niños a partir de los 2 años de edad.[4, 6, 7]

Si bien en la gran mayoría de los estudios actuales utilizan el IMC como estándar de evaluación para la constitución corporal, es de importancia denotar que los percentiles se calcularon a partir de las curvas de crecimiento del CDC, que se basaron en datos de encuestas nacionales recogidos de 1963-65 a 1988-94 en Estados Unidos.[4]

En conclusión, el IMC como medida evaluadora de la grasa corporal tiene sus limitaciones y puede dar lugar a sesgo en la medición de los efectos de la obesidad sobre los resultados de la salud.

Más allá de los errores derivados de inexactitudes de auto-informe, los

problemas se derivan del hecho de que el IMC no toma en cuenta lo siguiente:

- (1) la diferencia entre la masa grasa y la masa libre de grasa, tales como huesos y músculos;
- (2) los cambios en la composición corporal que se producen con la edad;
- (3) la relación de tiempo entre la obesidad y el resultado que se mide

Es aquí donde podría surgir la duda de si estamos evaluando correctamente la constitución corporal en nuestra población pediátrica, si bien perteneciente al continente americano y muy cercana a la frontera estadounidense, es muy distinta desde sus orígenes étnicos, situación social y económica.

Epidemiología del Sobrepeso y la Obesidad México.

En relación a lo previo, de acuerdo con los resultados de la ENSANUT 2012 [1], 35% de los adolescentes tenían sobrepeso u obesidad. En el ámbito nacional esto representaba alrededor de 6 325 131 individuos entre 12 y 19 años de edad. Además, indica que más de uno de cada cinco adolescentes tiene sobrepeso y uno de cada diez presenta obesidad. La prevalencia nacional combinada de sobrepeso y obesidad en adolescentes fue de alrededor de 35.8% para el sexo femenino (lo que representa a 3 175 711 adolescentes del sexo femenino en todo el país) y 34.1% en el sexo masculino (representativos de 3 148 146 adolescentes varones) en 2012. La proporción de

sobrepeso fue más alta en mujeres (23.7%) que en hombres (19.6%, 4 pp mayor); y para obesidad, los datos revelan que el porcentaje de adolescentes de sexo masculino con obesidad fue mayor (14.5%) que en las de sexo femenino (12.1%, 2.4 pp mayor). El aumento entre 2006 y 2012 fue de 5% en seis años para los sexos combinados (0.28 pp/año); el aumento en el sexo femenino fue de 7% (0.40 pp/año) y en el sexo masculino de 3% (0.18 pp/año).[1]

Epidemiología de la Salud Mental en México

En cuanto a la situación en salud mental, los estudios en México reportaron que en el 2004 alrededor de 15% de prevalencia de trastornos psiquiátricos era en niños, indicando que cinco millones de niños y niñas sufrían algún problema de salud mental.[8] Posteriormente en el 2006 investigadores mexicanos reportaron que en la población mexicana en especial en los niños y adolescentes, el 20% de ellos presentaban al menos un trastorno mental. Haciendo hincapié que el índice de personas con trastornos mentales en México fue inferior al que se reportaba en Estados Unidos y que el índice de personas que recibía tratamiento era también más bajo, dando por entendido que sin tratamiento los trastornos mentales pueden agravarse además de disminuir la calidad de vida.[9] A pesar de los esfuerzos por registrar el estado nutricional de los adolescente del país así como sus trastornos alimenticios, faltaba dilucidar su estado psiquiátrico y si este tenía relación con su composición corporal ya que esta encuesta solo se remitía a comentar las conductas alimentarias y no un trastorno per se. Es estudios ulteriores realizados en la ciudad de México y área

conurbada en la encuesta de salud mental publicada en el 2009, casi el 40% de los adolescentes reportaron en los últimos doce meses algún trastorno mental, de los cuales 1 de cada 4 dijo presentar un trastorno leve, uno de cada dos dijo presentar un trastorno moderado y uno de cada 5 presenta un trastorno mental severo o grave. Sobre esto mismo, la población de niños y adolescentes en el 2009 ascendió a 27% en unidades ambulatorias y a 6% en hospitales psiquiátricos.[10] Estas cifras resultan preocupantes si consideramos que la edad de inicio de la mayoría de los trastornos psiquiátricos se encuentra en las primeras décadas de la vida; tal como lo reportó la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica, en la cual, se señala que el 50% de los trastornos mentales inician antes de los 21 años de edad[10, 11]. De acuerdo con otros estudios, 24.7% de los adolescentes se encuentran afectados por uno o más problemas de salud mental. Los trastornos más recurrentes entre adolescentes son problemas de aprendizaje, retraso mental, trastornos de ansiedad y por déficit de atención, depresión y uso de sustancias, así como intentos de suicidio[10]

Fisiología de la ingesta calórica y los ritmos circadianos

A lo largo de la historia, la ciencia ha invertido mucho tiempo y esfuerzo en la búsqueda de comprender las bases fisiológica de la obesidad. Crucial para esta búsqueda fueron las incisiones realizadas en los cerebros de los animales para determinar las regiones cerebrales que controlaban la ingesta. Estos experimentos dieron lugar a la teoría dual de control de la ingesta de alimentos, la cual decretó que sólo dos

centros del cerebro se relacionan con la ingesta calórica: la relacionada con el hambre (centro hipotalámico lateral) y la relacionada con la saciedad (centro ventromedial), que, a través de conexiones del sistema nervioso simpático y parasimpático los mensajes del apetito transmitidos y relacionados con el resto de la organismo.[12]

La alimentación como sincronizador de los ritmos biológicos, además de influir en la estructura temporal interna del organismo; un horario de alimentación restringida puede actuar como sincronizador de muchos osciladores periféricos que no tienen clara influencia de sincronización en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo (NSQ). En tal situación, puede surgir una desincronización entre los ritmos controlados por la luz a través del Sistema Nervioso Central (SNC) y los ritmos conducidos bajo el control de un Food-entrainable oscillator (FEO), entendiéndose como un "núcleo alimentario capaz de ser entrenado". Cuando los animales se les da una comida con un contenido calórico que es demasiado bajos para cubrir sus necesidades, poco a poco arrastran algunos de sus ritmos circadianos a la hora de comer, y muestran mayores niveles de variables dadas (incluyendo la actividad locomotora, la motilidad gastrointestinal, actividad enzimática digestiva, y el cortisol en plasma) a la espera de la hora de comer. Se ha propuesto que esta actividad de alimentación anticipada (AAA) es controlado por un oscilador o una red de osciladores que es independiente del SNC, ya que se mantiene en animales lesionados del SNC.

El sistema circadiano

La alta estabilidad de la alternancia diaria entre la luz y la oscuridad, junto con los ciclos de temperatura, permiten a los mamíferos desarrollar un sistema de cronometraje circadiano para hacer frente a los cambios previsible en un entorno que permita al organismo ahorrar energía y aumentar su tasa de supervivencia. El sistema circadiano (SC) se compone de un conjunto de estructuras responsables de la generación y la sincronización de los ritmos biológicos a 24 ciclos ambientales.

El SC se compone de:

- a) Marcapaso central.
- b) Vías de entrada.
- c) Vías de salida.

Marcapasos central

El núcleo supraquiasmático del hipotálamo anterior (NSQ) y osciladores periféricos situados en la mayoría de los tejidos y células. Estos ritmos son generados por una retroalimentación de bucle entre dos grupos de genes: 1.- CLOCK (Circadian locomotor output cycles kaput) por sus siglas en inglés, los cuales pueden ser positivos y negativos. 2.- Receptor de arilo de hidrocarburo muscular (Bmal1), el cual actúa como elementos positivos, son responsables de la síntesis de dos factores de transcripción que después de su heterodimerización, inducen la expresión de los componentes negativos del CLOCK circadiano molecular.

Vías de entrada

Las vías de entrada, traen la información sobre el ciclo de luz-oscuridad hacia el marcapasos. Un tipo particular de células ganglionares de la retina con melanopsina, que se excita directamente por la luz azul, es el punto de partida de esta vía. Otros sincronizadores como la alimentación, ciclos regulares de ejercicio físico, o los contactos sociales son también conectados con el marcapasos central y osciladores periféricos, induciendo su sincronización.

Vías de salida

Las vías de salida son las responsables de la coordinación del ritmo circadiano entre diferentes funciones y partes del organismo. Estos son el resultado de mediadores humorales tales como la Prokineticina-2, que es capaz de generar el ritmo de actividad locomotora y salidas neuronales, tales como el cambio rítmico en el equilibrio parasimpático/simpático, o la liberación pineal de melatonina durante oscuridad.

Existen diferentes Osciladores circadianos aparte del NSQ, en los tejidos periféricos. El heterodímero CLOCK-BMAL1, tejido adiposo, leptina, adiponectina y células mononucleares sanguíneas.[13]

La alimentación como sincronizador de los ritmos biológicos

Además de influir en la estructura temporal interna del organismo, un horario de alimentación restringida puede actuar como sincronizador de muchos osciladores periféricos que no tienen clara influencia de sincronización en el NSQ. En tal situación, puede surgir una desincronización entre los ritmos controlados por la luz a través del NSQ y los ritmos estimulados por los alimentos bajo el control de un FEO.

Cuando los animales se les da una comida con un contenido calórico que es demasiado bajo para cubrir sus necesidades, poco a poco arrastran algunos de sus ritmos a la hora de comer, y muestran mayores niveles de variables dadas (incluyendo la actividad locomotora, la motilidad gastrointestinal, actividad enzimática digestiva y el cortisol en plasma) a la espera de la hora de comer. Se ha propuesto que esta actividad de alimentación anticipada (AAA) es controlado por un oscilador putativo o una red de osciladores que es independiente del NSQ ya que se mantiene en animales lesionados del NSQ.

Curiosamente, tanto la división del simpático y parasimpático del sistema nervioso autónomo puede discriminar entre los diferentes compartimentos de tejido adiposo, tales como la subcutánea e intraabdominal. Un desequilibrio entre los ritmos de diferentes compartimentos de grasa diferencialmente controlados por el sistema nervioso autónomo a su vez por el NSQ puede ser la causa del síndrome metabólico.

Regulación fisiológica del balance energético

Las neuronas que producen El neuropéptido Y, y la proteína *agouti*. Así como Las neuronas que producen ProOpiomelanocortina (POMC), y la proteína de Transcripción regulada de cocaína y anfetamina (CART) en el núcleo arcuato del hipotálamo, tienen un rol importante en la regulación del balance energético. La activación de las neuronas NPY/AGRP tienen efecto orexigénico, promoviendo la ingesta de alimentos, mientras la activación de las neuronas POMC/CART , tienen el efecto anorexigénico. Este grupo de neuronas reciben información de múltiples hormonas secretadas por diferentes órganos.

Entre estas hormonas se encuentra la Leptina que es secretada por el tejido adiposo, circulando a niveles que son proporcionales a los depósitos de tejido adiposo y realiza sus efectos a través del receptor de Leptina (LEPR), inhibiendo a las neuronas (NPY/AGRP) y estimulando a las neuronas (POMC/CART)

El páncreas secreta insulina, el cual tiene una influencia anorexigénica en el núcleo arcuato, estimulando a las neuronas POMC/CART, e inhibiendo a las neuronas NPY/AGRP.

El estómago y el duodeno producen Grelina, la cual tiene una influencia estimulando a las neuronas NPY/AGRP a través del receptor hormona del grelina (GHSRs).

El péptido YY3–36 (PYY3–36) es secretado en la porción distal del tracto gastrointestinal y actúa a través de los receptores Y2 (Y2Rs), produciendo un efecto inhibitorio en las neuronas NPY/AGRP.

Las neuronas NPY/AGRP) también tienen un efecto inhibitorio de las neuronas POMC/CART a través de la liberación de ácido amino

butírico (GABA), esta liberación puede ser estimulada con la unión de la grelina con el receptor de grelina.

Las señalizaciones orexigénicas y anorexigénicas pueden ser producidas por las neuronas NPY/AGRP y POMC/CART, para posteriormente enviar las señalizaciones a un grupo de neuronas efectoras de segundo orden, que también reciben información modificada por las señalizaciones de dopamina, serotonina y endocannabinoides.

Estas neuronas efectoras expresan receptores incluidos el receptor Y1 y el receptor 4 de melanocortina. Estas diversas entradas se unen para proporcionar la general del equilibrio entre la ingesta de alimentos y el gasto energético.[14-16]

Expresión génica relacionada con los cronotipos y la constitución corporal

El tejido adiposo es un oscilador periférico con ritmo circadiano. No es sólo el resultado de la acción del marcapasos hipotalámico central, sino que también es el producto de la actividad oscilatoria de diferentes tejidos periféricos como consecuencia de la actividad de sus genes CLOCK. Fue sólo después de los estudios de Ando et al. en 2005, cuando se demostró que los genes CLOCK Dbp, Per, Per2, Bmal1, Cry1 y Cry2 mostraron ritmos circadianos significativas en su expresión en el tejido adiposo del ratón. Las concentraciones de las transcripciones Dbp, Per1 y Per2 pico durante la última parte de la fase de la luz, mientras que el punto más bajo de Bmal1 ocurre en el mismo

momento. Hoy en día es bien conocido que, los genes CLOCK de los adipocitos muestran ritmicidad circadiana, y que la expresión de los genes CLOCK del tejido adiposo puede alterarse en situaciones patológicas, como ocurre en los ratones diabéticos y obesos. Ratones CLOCK mutantes exhiben hiperfagia, obesidad además desarrollan un síndrome metabólico que consiste en la hiperlipidemia, hiperglucemia y la hiperleptinemia.

En cuanto al tejido adiposo humano Garaulet y Cols encontraron que la expresión de los genes BMAL1 CLOCK, CRY y PER2 esta correlacionado con algunas de las características del síndrome metabólico. Posteriormente, han demostrado que se expresan estos genes CLOCK in vitro con una ritmicidad circadiana, lo que sugiere la existencia de un CLOCK periférico capaz de mantener los ritmos circadianos sin influencia del marcapasos central(NSQ). [12]

En específico BMAL1 se encuentra relacionado con el metabolismo del tejido adiposo. Además, juega un importante papel en la diferenciación de tejido adiposo. Por otro lado, la grasa subcutánea se reduce drásticamente en BMAL1 ratones KO. Estas observaciones sugieren que BMAL1, un componente de nuclear del reloj circadiano, está involucrado no sólo en el comportamiento de la regulación del organismo, sino también la acumulación de tejido adiposo en los tejidos periféricos.[12, 13]

Estudios previos han examinado el perfil de la expresión de los genes circadianos en células sanguíneas periféricas en sujetos no obesos. Así mismo la ausencia de oscilación circadiana en expresión de BMAL1 y Per2 en células mononucleares humanas, por otro lado, se observó un pico significativo en la expresión de Per1 se observó a

principios de la luz ciclo. Kusanagi et al . informó el perfil de expresión de 10 genes CLOCK en células mononucleares de sangre periférica. En este mismo estudio, Bmal1, Cry1 y Cry2 no mostraron cambios rítmicos en la expresión de células mononucleares periféricas humanas, mientras que la expresión robusta de Per1, Per2 y PER3 genes se observó en la mañana. Estos resultados sugieren que Per1 y Per2 puede desempeñar un papel en la regulación circadiana del ritmo en las células mononucleares periféricas humanas en sujetos no obesos.[13]

En genética, se denomina ligamiento a la asociación física entre dos loci (esto es, su cercanía en una misma hebra de ADN, lo que repercute en una baja frecuencia de recombinación entre ellos durante la meiosis, y, por tanto, a una mayor probabilidad de herencia conjunta). Se puede definir como la tendencia de los alelos de loci que están cercanos entre sí a heredarse juntos como un bloque (haplotipo).[14, 17].

Los estudios de asociación miden la frecuencia de un gen dentro de una población, en contraste con los estudios de ligamiento que examinan la transmisión conjunta de un marcador y un fenotipo dentro de las familias. Un polimorfismo está asociado con el trastorno si ocurre en combinación con el fenotipo en mayor proporción significativamente que la que se encuentra en una población control. Por otra parte, un trastorno está ligado a una región de ADN, si existe mayor probabilidad de que un locus muy cercano a esa región contribuya a la expresión del trastorno. Esto implica evaluar distintos polimorfismos dentro de un gen candidato. Un gen candidato se elige, por ejemplo, porque se sabe que es biológicamente relevante en el trastorno. Actualmente los investigadores utilizan una combinación de estos dos métodos,

evaluando tríos de los dos padres y un hijo afectado por el trastorno. Los participantes son genotipados y se determina cuál alelo se está transmitiendo con mayor frecuencia a la descendencia. Por supuesto se deben evaluar grandes cantidades de tríos para obtener resultados significativos. Este método es llamado Test de Desequilibrio de Ligamiento.[18]

Describiendo como desequilibrio del ligamiento (DL) a la propiedad de algunos aquella asociación no aleatoria de alelos en dos o más loci. El DL de todo el genoma refleja la historia de la población y el patrón de subdivisión geográfica, mientras que DL en cada región genómica refleja la historia de la selección natural, la conversión de genes, mutación y otras fuerzas que causan la evolución de la frecuencia genética.[19]

Relación de obesidad estudios de ligamiento genético

Estudios de ligamiento genéticos actuales para obesidad se han encontrado locus (sitios) relacionados con la obesidad. Indicando al cromosoma 2, 3,4,6,7, 11, 12 y 20 como las regiones que más se han replicado en múltiples estudios. Locus específicos en cromosomas 2, 3,10, 12, 20 y X representan aquellos locus que se han encontrado en estudios de cohorte que fueron seleccionadas específicamente por su obesidad. En estos mismo en el cromosoma 10 indican su relación con otras cohortes de población con obesidad. En los cromosomas 4, 6, y 19 indican aquellas regiones que fueron identificadas en grupos con fenotipos de obesidad extrema. Siendo más específicos se pueden citar

los cromosomas, brazos, bandas y regiones mejor identificadas hasta el momento: 2p21–p23; 3q27; 4p15–p14; 4q31–q32; 6q22.31–q23.2; 7q31–q32; 10p11–p12; 11q14–q24; 12q23–q24; 19q13.33–q13.43; 20q11–q13; Xq24.[14]

En 1977 se publicó un estudio ampliamente mencionado como pionero en relacionar la agregación familiar de obesidad[14], dicho estudio fue llevado a cabo por el National Heart, Lung and Blood Institute (NHBLI) por sus siglas en inglés, el cual realizó el primer estudio en gemelos sobre agregación familiar de obesidad, indicando por primera vez una agregación familiar como causa de obesidad, más que debido al ambiente.[20] Apoyados en esta evidencia en 1986, en un estudio comparativo de gemelos dicigóticos y monócigóticos se estimó la heredabilidad del peso en 0.78, el cual incremento hasta 0.81 al terminar los 25 años de estudio. Así mismo para la altura fue de 0.80 y en reportando que la heredabilidad cambia para los hombres en 0.70 y para mujeres en 0.66 y le atribuyeron al ambiente solo un 30 % de la varianza.[21, 22]

Relación entre la obesidad y cronotipos

En las últimas décadas ha habido un aumento significativo en la prevalencia de obesidad en el mundo por lo que la OMS la ha declarado como una epidemia mundial. La obesidad en la infancia es una de las causas identificadas de problemas psicosociales, tales como baja autoestima y que con frecuencia se mantiene en la adultez, donde a su vez es una importante causa de morbilidad y mortalidad, así como la

enfermedad cardiovascular y diabetes melitus tipo 2 (DMT2). Al mismo tiempo, ha habido una reducción en el tiempo de sueño. Las encuestas nacionales de EE.UU. han mostrado una disminución en la duración de la percepción subjetiva del sueño en los últimos 50 años por 1,5 a 2 horas.[7, 23]

Esta restricción del sueño se ha atribuido a los cambios de estilo de vida. Varios estudios han informado de la asociación entre la duración del sueño (corto y largo) y la mala salud, incluida la relación con la percepción subjetiva de bienestar, morbilidad y mortalidad y con enfermedades crónicas como la DMT2 trastornos respiratorios e hipertensión. Las asociaciones entre la duración corta del sueño y la obesidad, en particular, han estimulado un debate teniendo en cuenta las posibles consecuencias para los niños y los adultos.[24-26]

En un meta análisis realizado en el 2000 sobre sueño corto y obesidad, tanto en adultos como en niños, donde se obtuvieron muestras de 13 poblaciones en 11 estudios Incluyeron 30.002 participantes procedentes de Francia, Túnez, Japón, Alemania, Estados Unidos, Brasil, Portugal, Reino Unido, Canadá, Taiwán y China. La edad osciló entre 2 a 20 años e incluyó niños y niñas. Los tamaños de muestra variaron entre 150 y 8941. Siete de los 11 estudios informaron una significativa asociación entre la corta duración del sueño y la obesidad. El OR agrupado fue 1,89 (1,46 a 2,43). El sesgo de publicación no fue detectado por el test de Begg ($P = 0,12$). La prueba de heterogeneidad fue significativa ($Q = 46,6$, $df = 10$, $P < 0,001$). El análisis de sensibilidad indicó que la omisión de cualquiera de los estudios dio lugar a cambios en las estimaciones entre 1,61 (1,33 a 1,96) y 2,07 (1,54 a 2,79). Se muestra un cuadro persistente de aumento de las probabilidades de

tener sueño corto, si uno es obeso, tanto en la infancia como en adultez. Un análisis de regresión agrupada en adultos también sugiere que una reducción en una hora de sueño por día se asoció con un aumento en el IMC 0,35 kg/m². Para una persona de aproximadamente 178 cm de altura que sería equivalente a aproximadamente 1,4 kg de peso.[27]

Estos resultados son de interés por varias razones. En primer lugar, la asociación es consistente en diferentes poblaciones.[1, 7, 27] Aunque en el metaanálisis se detectó, una heterogeneidad significativa entre las variables de los estudios; en el análisis de sensibilidad y al excluir aquellas publicaciones con sesgo, se mantuvo a favor de un efecto similar en cuanto a la asociación de sueño corto y obesidad en las distintas poblaciones. En segundo lugar, indican un tamaño del efecto consistente a través de las edades. El aumento del 60% al 80% en las probabilidades de tener un sueño corto entre adolescentes obesos se observó en niños y adultos, incluso después de cierta atenuación siguiendo los análisis de sensibilidad se ha sugerido que el sueño corto puede conducir a la obesidad a través de la activación de respuestas hormonales que conducen a un aumento en el apetito y la ingesta calórica. El sueño corto se asocia a cambios recíprocos en la leptina y grelina en modelos animales.[12] Traslapando dichos hallazgos en humanos, estos cambios podrían aumentar el apetito y contribuir al desarrollo de la obesidad.[12, 28, 29]

La evidencia en humanos proviene de privación corta de duración del sueño por lo que no se pueden extrapolar a los efectos a largo plazo en la población. Por último, no es inconcebible que el sueño de corta duración es sólo un marcador del desfavorable para el estado de salud y las características del estilo de vida.

Sobrepeso, Obesidad y Trastornos Psiquiátricos

Uno de los primeros estudios en el que se publicó la probable asociación entre obesidad y depresión fue publicado en el 2003, en el que su objetivo era examinar la relación temporal entre obesidad y depresión para determinar si cada uno constituía como factor de riesgo para el otro, fue una cohorte de 2123 sujetos de 50 años o mayores que participaron en dos fases tanto en 1994 y 1999 en el estudio del condado de Alameda. En este se definió a la obesidad mediante IMC y la depresión mediante los criterios diagnósticos del DSM-IV, así mismo se recabaron las características sociodemográficas y de salud general. Los resultados describieron que la obesidad estuvo asociada a un riesgo incrementado para depresión cinco años después, inclusive al ser ajustado por las covariables como edad, género, educación, estatus marital, soporte social, número de eventos adversos en la vida, número de comorbilidades médicas y limitaciones funcionales. Además, reportaron que la depresión no generaba riesgo para obesidad futura. Aunque logran describir una asociación, esta se basa en el total de los sujetos participantes sin describir si existe influencia de género o alguna característica sociodemográfica mayormente implicada.[30]

Así mismo durante el 2009, se reportó una probable diferencia de género. Ya que las mujeres con un historial de vida de depresión contaban con un incremento de la masa grasa (+ 7,4%) y el porcentaje de grasa corporal (+ 4,3%), así como un mayor peso medio (+ 3,3%), circunferencia de la cintura (+ 2,9%) y el índice de masa corporal (+3,5 %) después del ajuste por edad, la ansiedad, el consumo de alcohol, actividad física y antecedentes de tabaquismo. Por otra parte, aquellas

que contaban con historia de vida de depresión tenían un 1,7 veces más probabilidades de tener sobrepeso u obesidad (IMC mayor o = 25), un 2.0 veces más probabilidades de ser obesos (IMC mayor o = 30) y un 1,8 aumento de las probabilidades de tener una circunferencia de cintura > o = 80 cm. No se observaron diferencias en las medidas de adiposidad entre las personas con trastornos de ansiedad en comparación con los controles. Este estudio tuvo como objetivo investigar la relación entre los trastornos depresivos y de ansiedad e índices de adiposidad, incluyendo la masa grasa corporal y porcentaje de grasa corporal, medida por absorciometría dual de rayos-X. En este estudio observacional de 979 mujeres seleccionadas al azar de edades entre los 20-93 años, los antecedentes psiquiátricos se determinaron mediante una entrevista clínica estructurada (SCID-I / NP). Reportaron un potencial de confusión no reconocido, ya que las interpretaciones se limitan a las mujeres y una relación temporal no pueden ser inferidos. La depresión se asocia con una mayor adiposidad. La diferencia en la masa grasa corporal fue numéricamente mayor que las diferencias en las medidas indirectas de la adiposidad, lo que sugiere que este último puede subestimar el grado de adiposidad en esta población.[31]

A su vez en el 2011 reportaron que la obesidad abdominal puede tener mayor relación con la depresión en específico. Debido a que en esta revisión sistemática en el cual analizaron 15 estudios transversales realizados en población general describen una magnitud moderada de la relación entre obesidad abdominal y la depresión (OR 1.44 , 95% CI, 1.21—1.71), en el mismo estudio se logró reportar el riesgo en hombres (OR, 1.43) y mujeres (OR, 1.50) aunque dicho análisis se excluyó del análisis comparativo porque hubo estudios en los cuales no se reportó

el género. Así mismo, se encontraron un riesgo aproximado del 50% de tener depresión tanto en mujeres como hombres con obesidad abdominal, además de sugerir que el género por sí mismo no incrementa el riesgo de depresión en aquellos con obesidad abdominal. Concluyendo que la obesidad abdominal tiene mayor asociación con la depresión que la obesidad general, incluso los síntomas depresivos moderados incrementan el riesgo de la mortalidad cardíaca.[32]

La obesidad de inicio precoz se asocia con el estado de ánimo, la alimentación y trastornos médicos generales. Por ejemplo, un mayor IMC, intentos de pérdida de peso con menos éxito, más trastornos alimentarios y una mayor insatisfacción corporal han sido reportados en pacientes con obesidad de inicio precoz que en los pacientes con obesidad en la edad adulta.[6, 25-27]

Del mismo modo, la obesidad de inicio temprano se ha asociado con una mayor frecuencia y los niveles más altos de angustia emocional y psicopatología, una tendencia a experimentar más depresión y ansiedad síntomas que la obesidad de inicio tardío.[23-26, 33-36]

Psicopatología y su relación con los ritmos circadianos

Actualmente existe evidencia de que al haber alteraciones en los ritmos circadianos se pueden observar manifestaciones cognitivas, conductuales y emocionales, expresadas por sintomatología psiquiatra en un rango amplio de psicopatología, aunque hasta el momento solo se han reportado asociaciones y no causalidad por sí misma.

Dentro de los trastornos psiquiátricos en donde se han estudiado con mayor frecuencia los cambios circadianos es en la depresión y

ansiedad; manifestaciones tales como alteraciones en el patrón y calidad del sueño, se han reportados en un rango de 50-85% de los pacientes.[37, 38]

Una de las principales diferencias en el ritmo circadiano humano son los cronotipos, que podría definirse en términos de la preferencia individual para la actividad y el sueño durante la mañana (matutinidad) o por la tarde (vespertino).[39-41]

La herramienta más extensamente utilizada para diferenciar el Cronotipo es por su nombre en inglés el *Morningness Eveningness Questionnaire* (MEQ)[41, 42], actualmente esta es una de las escalas utilizadas en la evaluación de los ritmos circadianos por la *National Institute of Health* (NIH, por sus siglas en inglés) a través de los criterios de dominio.

Diferentes grupos de investigadores han descrito la relación entre cronotipos y las variaciones del estado de ánimo[43], estacionalidad del estado de ánimo[44], insomnio[45] y el trastorno afectivo estacional[46, 47]. Datos previos sugieren una relación entre el estado del ánimo y el cronotipo. Por ejemplo, cambios de humor en sujetos sanos[43], la variación de la fase circadiana en el trastorno bipolar[48] y específicamente el cronotipo de vespertinidad con la depresión.[38, 45, 47]

Ritmos circadianos, psicopatología, constitución corporal y adolescencia

Los cambios en la preferencia de sueño, es decir, en la preferencia del cronotipo, ocurre al principio y en el final de la adolescencia. Los niños son generalmente de preferencias matutinas, pero cuando llegan a la pubertad, la preferencia se desplaza hacia la vespertinidad [41]. La vespertinidad aumentada y el ingreso a la escuela por las mañanas puede resultar en una falta de sueño en días de escuela y en sueño compensatorio en los fines de semana [49]. Por otra parte, la preferencia de vespertinidad en la adolescencia afecta el rendimiento escolar negativamente [50, 51]. En un estudio similar encontraron que los adolescentes de preferencias vespertinas reportan más síntomas conductuales así como problemas emocionales en comparación con los de preferencia matutina o preferencias neutras [52]. Por otra parte, aquellos con preferencias matutinas se presentan con menos disminución del estado de ánimo e impulsividad en comparación con los de preferencia vespertina [39, 43, 51]. Por lo tanto, la vespertinidad puede estar asociada con una amplia gama emocional y problemas de comportamiento, así como conducta perjudicial relacionada al uso de sustancias y tendencias suicidas [39, 51]. En consonancia, en adultos jóvenes y adolescentes, una relación positiva entre matutinidad y la satisfacción con la vida ha sido reportada [50, 53].

Consecuentemente, la calidad de Vida Relacionada con la Salud (CVRS) es una construcción multidimensional perteneciente a la física, emocional, componentes mentales, sociales y de comportamiento de bienestar y funcionamiento [50]. Se ha reportado que en estudiantes de

secundaria, una latencia de sueño más larga, menor duración del sueño, y el aumento de la somnolencia en los de preferencia vespertina, en comparación con los de preferencia matutina y neutra. También encontraron estos retrasos en la hora de sueño se asocian fuertemente con la calidad de vida. [50, 54]

El efecto negativo de los problemas de sueño en la CVRS ha sido verificado en los adultos, niños y adolescentes [13, 50, 55]. Por lo tanto las variables, relacionadas con el sueño es probable que sean factores de mediación en la relación de Matutinidad/Vespertinidad y la CVRS. Por otra parte, relacionado con el sueño y la cognición es más disfuncional y más frecuentes en los de preferencia vespertina.[39, 44] Otros estudios indican que los de preferencia vespertina son menos conscientes de la programación del sueño [51], la excitación cognitiva en la cama así como factores de riesgo psicológicos para trastornos del sueño, son factores que contribuyen al desarrollo y mantenimiento de trastornos del sueño [50].

Preferencias diurnas están asociadas con varios comportamientos habituales o no habituales, incluyendo la ingesta de alimentos en adolescentes [53], conductas para dormir entre los estudiantes universitarios, comportamientos problemáticos en adolescentes [51], el tabaquismo [39, 50, 54] y la actividad e inactividad física [13, 24, 51]

Diferentes vías pueden explicar la asociación entre cronotipos de matutinidad-vespertinidad y los comportamientos relacionados con la salud. La primera vía hipotética es a través de los rasgos de personalidad, como la búsqueda de la novedad [50, 51], la conciencia [54], y el auto-control [51]. La segunda vía es a través de los vínculos entre matutinidad-vespertinidad y los marcadores fisiológicos de

ritmicidad circadiana endógena [12, 56]. Estas asociaciones reflejan el posible impacto del retraso de fase de funcionamiento fisiológico en los comportamientos. Algunos comportamientos perjudiciales para la salud, como fumar, pueden compensar el funcionamiento fisiológico asociado con más vespertinidad [51]. La tercera posible vía está relacionada con la construcción de jetlag social, que es la falta de alineación de tiempo social y biológica [57]. El Jetlag Social se sugiere como un posible mediador entre las preferencias diurnas, uso de drogas e inactividad física [50, 51, 57]. El consumo de drogas puede ser una automedicación del impacto negativo del jetlag social y por otro lado, el consumo de drogas y la inactividad física pueden aumentar jetlag social con la perturbación de la ritmicidad circadiana, los patrones de sueño-vigilia y de calidad de sueño distorsionada [41, 52, 57-59]. De acuerdo con la teoría de la conducta problemática [51, 60], los comportamientos problemáticos en adolescentes ayudan a llegar a la normalidad al final del desarrollo y hacer frente al estrés. La desalineación del tiempo social y biológico, o un cronotipo inadaptado, así como una escuela demandante, pueden causar estrés, lo que requiere hacer frente a esfuerzos que puedan llevar a la adaptación o la inadaptación, tales como el consumo de drogas. De acuerdo con este razonamiento, se ha informado que el tabaco y el alcohol son mediadores entre el cronotipo y la disminución del bienestar psicológico en adultos [50, 51, 57]. Se necesitan más estudios para probar estas mediaciones en adolescentes.[51, 60]

En una muestra de adolescentes sanos, se encontró que aquellos con cronotipos de predominio matutino son significativamente más competentes, bien organizados, disciplinados y obedientes, mientras

que los de tipo vespertino tienden a ser de personalidad más neurótica (más ansiedad, hostilidad, depresión, impulsividad y vulnerabilidad) [51].

De acuerdo a lo previamente citado, podemos inferir que la obesidad podría ser el resultado de múltiples factores relacionados tales como el estado sociocultural, la carga genética, la psicopatología así como también podría verse influenciada por el cronotipo manifestado por cada individuo y que aún queda por dilucidar su manifestación en etapas de transición como la adolescencia.

III. Pregunta de investigación

¿Cuál es la relación de los cronotipos y sus variantes genéticas sobre la constitución corporal en adolescentes con psicopatología?

IV. Justificación

En México, el sobrepeso y la obesidad en edades pediátricas constituyen en la actualidad un problema de salud pública que amerita atención prioritaria debido al incremento en su prevalencia, a su propensión a la cronicidad, a su impacto en la salud física y mental y a su comorbilidad frecuente con otras entidades. Afortunadamente, los problemas de sobrepeso y obesidad en edades pediátricas son susceptibles tanto de prevención como de tratamiento, por lo que es indispensable su identificación y atención oportunas.

Es necesario un abordaje multidisciplinario, que incluya el estudio de la psicopatología en la obesidad. Para esto no solo es necesario estudiar la salud mental en individuos con obesidad, si no también estudiar el estado ponderal y posible riesgo metabólico en individuos con psicopatología. Al respecto, la mayoría de los estudios existentes en la actualidad se enfoca al estudio de la psicopatología en población adulta con sobrepeso u obesidad, pero aún hay escasez en cuanto a la información disponible acerca del estado de adiposidad y riesgo metabólico en población pediátrica con psicopatología.

Hay reportes del riesgo metabólico del uso de algunos psicofármacos, pero es poco lo que se sabe acerca de si la psicopatología en sí, previo al uso de psicofármacos, ya confiere riesgo

por sí misma. Los adolescentes afectados se beneficiarán de una evaluación de los cronotipos, así como de su constitución corporal y se comentarán los resultados tanto al sujeto evaluado y su familia como al médico tratante, a través del expediente lo que dará mayor información para desarrollar un plan de trabajo con el paciente.

Hipótesis de la investigación

Hipótesis general

Se encontrará una mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad en adolescentes con psicopatología y se mostrará asociación entre las distintas presentaciones de cronotipos, factores medio ambientales y genéticos específicos.

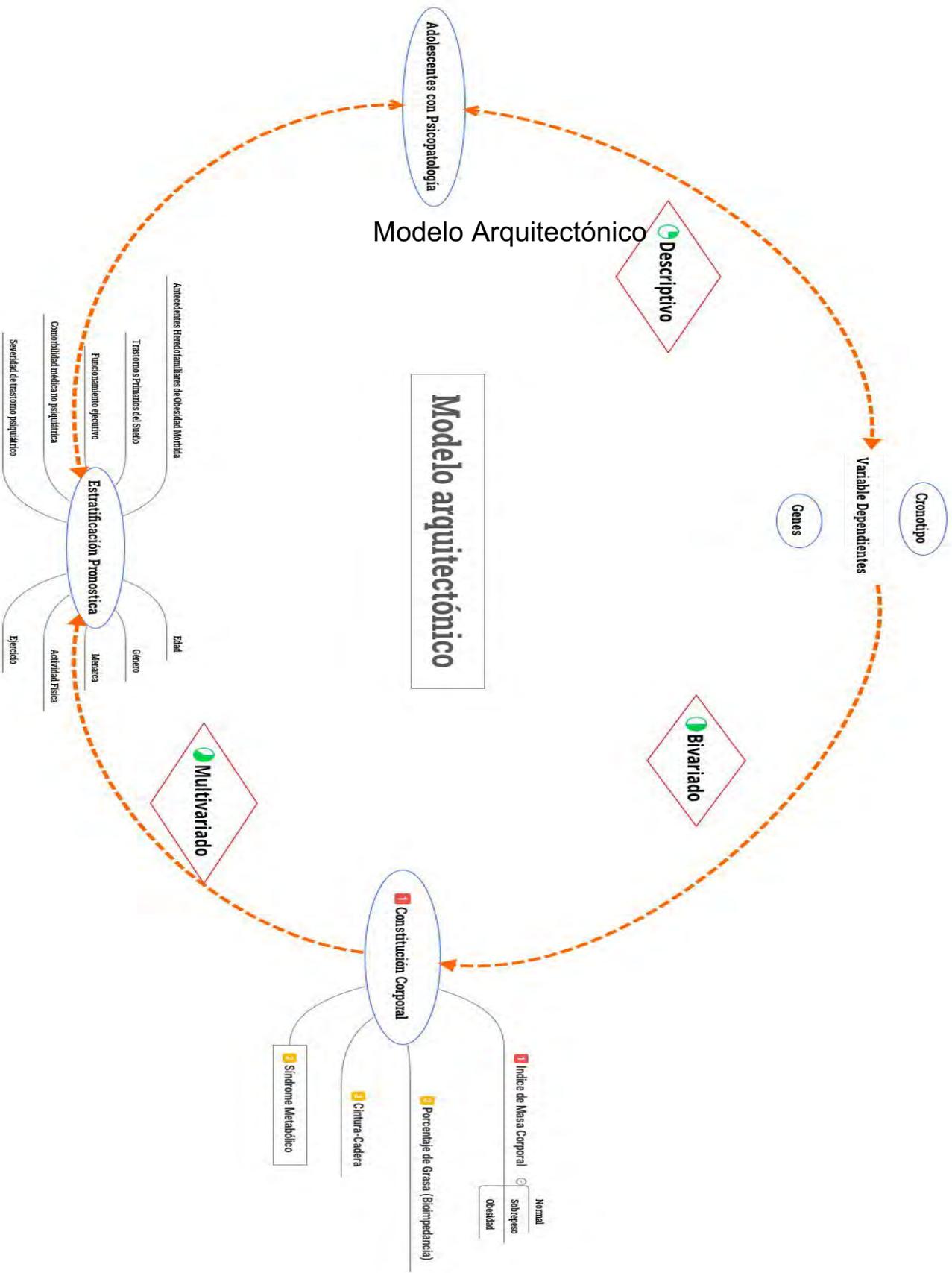
V. Objetivos

Objetivo principal

Describir la posible relación entre los cronotipos y sus variantes genéticas de Genotipos Clock T3111C, así como la constitución corporal en una muestra de adolescentes con psicopatología.

Objetivos secundarios

- Describir las características clínicas y sociodemográficas de una muestra de pacientes adolescentes con psicopatología y categorizados según su cronotipo y constitución corporal.
- Identificar la relación entre el diagnóstico psicopatológico del adolescente y la presentación de su cronotipo y variante genética.
- Determinar la relación entre los polimorfismos del Gen Clock T3111C y la presentación de cronotipo específico.
- Determinar la relación entre los polimorfismos del Gen Clock T3111C y la constitución corporal.
- Determinar la relación entre los polimorfismos del Gen Clock T3111C, la presentación de cronotipo específico con otras medidas de constitución corporal (porcentaje de grasa, circunferencia de cintura y cadera), variables de clínicas y de laboratorio.



VI. Material y métodos

Tipo de estudio

Comparativo, descriptivo, transversal y de revisión de expedientes clínicos.

Población en estudio y tamaño de la muestra

El universo en estudio consistirá en adolescentes de ambos sexos, con edades comprendidas entre los 13 y los 17 años, que acudieron a la clínica de adolescentes del INPRF y que la información de las variables de interés se encontrara en el expediente clínico. La muestra ha sido calculada para una población de pacientes, con prevalencia observada de sobrepeso y obesidad en clínicas de salud mexicanas de 43.6%. [61] Nivel de confianza de 95%, intervalo de 5%. Con tamaño de muestra necesario para este estudio de 152 sujetos.

Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Criterios de inclusión

- Individuos de ambos géneros, con una edad comprendida entre los 13 y los 17 años, que acudan por primera vez a atención a la Clínica

de Adolescentes del INPRF en compañía de un informante (uno de sus padres o cuidador primario)

- La participación en el estudio es voluntaria y requiere consentimiento informado por escrito.
- Tanto el adolescente como su cuidador primario deben hablar español, leer y escribir y aceptar participar en el estudio.

Criterios de exclusión

- Menores con condiciones médicas no psiquiátricas que se sabe pueden asociarse a sobrepeso u obesidad (hipotiroidismo, Síndrome de Cushing, Síndrome de Prader Willi, entre otros).
- Menores en tratamiento con medicamentos conocidos por su asociación con incremento de peso (esteroides, inmunomoduladores, hipoglucemiantes).
- Menores cuyos cuidadores o ellos mismos, al momento de la entrevista, tuvieran una condición mental o física que impidiera su participación en el estudio (p. ej. que cursaran con alteraciones de la conciencia, estados confusionales, intoxicación aguda por cualquier sustancia psicoactiva, un episodio psicótico agudo, entre otros)

Criterios de eliminación.

- Menores en los que la participación haya sido incompleta.
- A solicitud del paciente y/o su padre y/o tutor.
- Pacientes que por su condición clínica o por hallazgos en los estudios de laboratorio requieran iniciar tratamiento farmacológico de cualquier índole.

Métodos de recolección de datos

El procedimiento de recolección de datos se basó en la búsqueda de las variables de interés en el expediente clínico.

Se realizó el reclutamiento de los participantes adolescentes y sus familiares dentro de la Clínica de Adolescencia del INPRF. Una vez que el paciente sea admitido al Servicio de Consulta Externa y haya tenido una cita para integración de su expediente clínico, el investigador invitará a participar a quienes cumplan con los criterios de inclusión, explicando el objetivo y procedimientos del estudio. Los adolescentes que aceptaron participar voluntariamente firmaron la Carta de Asentimiento Informado. Los padres que autorizaron la participación propia y de sus hijos en el estudio firmaron la Carta de Consentimiento Informado. Inicialmente se recolectó información respecto a las variables sociodemográficas de ambos participantes. Los adolescentes fueron valorados por medio de la entrevista clínica Brief Psychiatric Rating Scale - Child (BPRS-C) para determinar su diagnóstico psiquiátrico.

Descripción de los instrumentos de evaluación

BPRS-C

La Escala Breve de Evaluación Psiquiátrica para Niños y Adolescentes en su versión mexicana es una entrevista clínica de 25-29 ítems desarrollada a partir del Brief Psychiatric Rating Scale - Child (BPRS-C) por médicos e investigadores de la Clínica de Adolescencia del

INPRFM. Esta escala requiere ser aplicada por un profesional entrenado y tiene una duración aproximada de 45 minutos. El BPRS permite realizar el diagnóstico de distintos trastornos mentales de acuerdo a los criterios del DSM-IV-TR, así como evaluar cambios en la sintomatología de pacientes psiquiátricos. Esta versión incluye reactivos adicionales para la evaluación de trastornos de la excreción, uso y abuso de sustancias, abuso psicológico, abuso sexual, y falta de emociones pro sociales. La confiabilidad ínter-evaluador y test-retest ha sido reportada con $r=0.824$ y $r=0.661$, respectivamente.

Los diagnósticos que se podrán establecer en este estudio por medio del instrumento incluyen: trastorno negativista desafiante, trastorno de conducta (trastorno disocial), trastorno explosivo intermitente, trastorno disruptivo de la regulación emocional, trastorno depresivo mayor, trastorno por autolesión no suicida, trastorno afectivo bipolar, trastornos psicóticos, trastorno por déficit de atención e hiperactividad, fobia social, trastorno de ansiedad generalizada, trastorno de angustia, trastorno de ansiedad por separación, trastorno por estrés postraumático, trastorno obsesivo compulsivo, tics, trastornos del sueño, trastornos de la alimentación, trastornos de la excreción, trastorno por uso de sustancias.

CEDULA YUGAL

Es una cédula de registro diseñada para compilar información sociodemográfica y de la familia, hábitos del paciente y otros antecedentes relevantes, incluyendo datos clínicos, antropométricos y

resultados de estudios de laboratorio. Consta de tres versiones, cada una dirigida al médico, paciente y padre/ tutor de forma respectiva y está compuesta por dos apartados: cédula básica y cédula específica. La cédula básica forma parte de la evaluación rutinaria de la Clínica de Adolescentes del INPRF. Para los proyectos de investigación, se incluirá un número de folio designado para cada paciente con el fin de preservar su confidencialidad. Se estima que contenga la información mínima necesaria para la evaluación, con el fin de evitar saturar a los participantes con la solicitud excesiva de información. Siguiendo esta línea, la información de la cédula será dividida para su llenado en dos sesiones distintas (cédula básica y cédula específica). Asimismo, dado que los síntomas de los trastornos internalizados se reportan con mayor frecuencia y fidelidad por el mismo individuo, y los síntomas de trastornos externalizados, son reportados con mayor frecuencia por los padres/tutores, se consideró innecesario parear todas las escalas clinimétricas utilizadas en las distintas versiones (padre/tutor y adolescente).

Las características de las distintas versiones se exponen a continuación:

Versión Médico

Forma parte de la cédula básica e incluye información sociodemográfica, antecedentes (heredofamiliares, personales patológicos, consumo de sustancias psicoactivas e historia de abuso o negligencia) y exploración física, así como un apartado para la recolección de datos antropométricos y de estudios de laboratorio. Como parte de las escalas clinimétricas, incluye la Escala Global de Evaluación para Niños y el APGAR familiar.

Versión Padre/tutor

Está compuesta por dos apartados (cédula básica y cédula específica) e incluye información sociodemográfica y del desarrollo, historia de salud, así como un cuestionario de medición de hábitos (pasatiempos, actividad física, sueño y alimentación). Los datos del desarrollo fueron adaptados del modelo de evaluación de Barkley.

Versión Adolescente

Está compuesta por dos apartados (cédula básica y cédula específica) e incluye un cuestionario de medición de hábitos (pasatiempos,

actividad física, sueño y alimentación) y dentro del mismo folder, se anexan las siguientes escalas clinimétricas:

ESCALA DE MATUTINIDAD-VESPERTINIDAD PARA NIÑOS Y ADOLESCENTES (MESC).

Está formada por 10 preguntas en las que se evalúa el horario de preferencia para realizar diversas actividades como son un examen, deporte o la hora ideal de acostarse y levantarse, entre otras.

Cada uno de los ítems tiene 4 ó 5 opciones de respuesta. El rango de puntuaciones oscila desde 10 (vespertina) a 43 (matutinidad). La escala ha sido adaptada y validada al español con buenos indicadores psicométricos [57]. Confiabilidad α de Cronbach = 0.71.

ESCALA SDQ (VERSIÓN PADRE y ADOLESCENTE).

El cuestionario de fortalezas y dificultades (Strengths and Difficulties Questionnaire - SDQ-) (Goodman 1997) es un instrumento tipo likert de 25 reactivos, del cual existen 3 versiones una autoaplicada, otra para aplicar en la madre o del padre y la otra es para maestros. Es el instrumento más ampliamente utilizado en investigación en salud mental infantil (Vostanis 2006). Ha demostrado sus propiedades psicométricas en diferentes culturas con diferentes puntos de corte (Hawes y cols. 2004; Koskelainen y cols 2000; Woerner y cols. 2004; Bourdon y cols. 2005; en Fabregat y cols. 2009).

2.-La obtención de la muestra genética fue obtenida mediante raspado bucal y extracción sanguínea para el análisis de las variables de laboratorio. La obtención del ADN mediante el Kit Genra Puregen Buccal Cell (Qiagen), fue en la primera, como la segunda entrevista, siempre y cuando se cumplieran los criterios de inclusión y exclusión.

3.-Extracción y Genotipificación de ADN (Ver ANEXO 1)

4.-Se efectuará el análisis de las bases de datos mediante el programa estadístico SPSS, utilizando un equipo de cómputo. El nivel de significancia se fijará con una $p < 0.05$ y se realizará un análisis de χ^2 tomando como variables dependientes el IMC, Circunferencia de cintura/cadera, porcentaje de adiposidad, cronotipos, además de las variantes genéticas y como variables independientes los perfiles psicopatológicos y al resto de las conductas investigadas con la cédula.

5.-En caso de detectar a un adolescente con riesgo metabólico, se identificará al sujeto mediante su número de folio y se establecerá contacto con su médico tratante para que dicho paciente reciba atención oportuna.

6.-Se ampliará la búsqueda bibliográfica para sustentar la discusión de los resultados y las conclusiones de este trabajo de investigación.

Descripción de las variables

| VARIABLE | DEFINICIÓN OPERACIONAL | INSTRUMENTO | TIPO DE VARIABLE |
|-------------------------------------|---|---|---|
| Índice de masa corporal | Medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo | Antropometría con Bascula- Estadímetro | Dimensional* Bajo peso: Menos del percentil 5 Peso saludable: Percentil 5 hasta por debajo del percentil 85 Sobrepeso: Percentil 85 hasta por debajo del percentil 95 Obesidad: Igual o mayor al percentil 95 *Ajustado por edad y sexo. |
| Porcentaje de Grasa corporal | Medición cuantitativa indirecta del componente de masa grasa corporal en porcentaje | Bioimpedancia (Tanita) | Dimensional* Bajo de Grasa Saludable Exceso de Grasa Obeso *Ajustado por edad y sexo. |
| Circunferencia abdominal | Medición cuantitativa directa de la circunferencia de cintura en centímetros | Cinta métrica | Dimensional* Bajo peso: Menos del percentil 5 Peso saludable: Percentil 5 hasta |

| | | | |
|-----------------------------------|--|---|--|
| | | | <p>por debajo del percentil 85</p> <p>Sobrepeso: Percentil 85 hasta por debajo del percentil 95</p> <p>Obesidad: Igual o mayor al percentil 95</p> <p>*Ajustado por edad y sexo.</p> |
| Valores de laboratorio | Medición cuantitativa directa de glucosa, colesterol, HDL, LDL, Triglicéridos, TSH, T3 total, T4 total, Ácido Úrico y Leucocitos totales | Análisis de laboratorio con referencias institucionales | <p>Dimensional</p> <p>Valores de acuerdo a estándares diagnósticos e institucionales.</p> |
| Trastornos psiquiátricos | Trastornos en salud mental | BPRS C 25 versión mexicana. (Criterios según DSM IV) | <p>Dicotómica</p> <p>1 = Presencia Tx mental (será específico para cada Trastorno)</p> <p>0 = Ausencia</p> |
| Severidad tx psiquiátricos | Intensidad de Trastornos psiquiátricos | SDQ Padres SDQ-Adolescentes | Dimensional |
| Cronotipo | Preferencia individual de tiempo para dormir o estar activo. | MESC | <p>Dimensional</p> <p>Vespertinidad</p> <p>Indiferenciado</p> <p>Matutinidad</p> |

| | | | |
|------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|---|
| Polimorfismo de genes CLOCK | Variación genética de Genotipos CLOCK | Reacción en Cadena de Polimerasa | Dimensional Genotipo: 3111 C/C 3111 C/T 3111 T/T |
|------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|---|

Análisis estadístico de la información y plan de análisis

Debido a la ausencia de parámetros de referencia de las pruebas bioquímicas en población pediátrica mexicana, se utilizaron aquellas reportadas en la bibliografía internacional, estandarizadas por edad y género como los criterios propuestos por el consenso de la *International Diabetes Federation* (IDF) [6] por sus siglas en inglés para síndrome metabólico que describe que para niños y adolescentes entre 10 y 16 años los parámetros son los siguientes: Glucosa \geq de 100 mg/dL, obesidad \geq percentil 90 de IMC, HDL $<$ 40 mg/dL y para adolescentes mayores de 16 años en masculinos $<$ 40 mg/dL y en femeninos $<$ 50 mg/dL. Para el resto de los valores de lípidos se utilizaron los criterios del *Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents 2012* por la *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) por sus siglas en inglés [62]. Para Colesterol total: aceptable 170 mg/dL, límites moderados 170-199 mg/dL, límites elevados \geq 200 mg/dL. LDL aceptable $<$ 100 mg/dL, límites moderados 100-129 mg/dL, límites elevados \geq 130 mg/dL. Triglicéridos: aceptable $<$ 90 mg/dL, límites moderados 90-129 mg/dL, límites elevados \geq 130 mg/dL. Los valores para las pruebas de función tiroidea (TSH, T3 total, T4 total), así como de ácido úrico son los utilizados por el INPRF. Para la clasificación del índice de masa corporal (IMC) se realizó a través de las tablas de crecimiento de los CDC para el IMC por edad (para niños y niñas) para obtener la categoría del percentil, clasificándose como: Bajo peso menos del percentil 5, peso saludable del percentil 5 hasta por debajo del percentil 85, sobrepeso del percentil 85 hasta por debajo del percentil 95 y obesidad como igual

o mayor al percentil 95 [4]. En el caso de las cifras de tensión arterial para adolescentes masculinos y femeninos se utilizaron los criterios del *Fourth Report on the Diagnosis Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents 2005* del *National Heart, Lung and Blood Institute* (NHLBI) por sus siglas en inglés [63]. Tanto para la tensión arterial sistólica y tensión arterial diastólica percentilada: normal <90 , prehipertensión de la percentil 90 hasta por debajo de la 95, hipertensión estadio 1 entre las percentiles 95 a 99 e hipertensión estadio 2 \geq al percentil 99 más 5 mm/Hg. Para determinar el cronotipo de los adolescentes, se percentiló el total de la escala MESC. Las puntuaciones que se encontraran en el rango de 23-28 se consideraron como cronotipo indiferenciado, aquellas igual o mayores a 29 se catalogaron como cronotipo matutino y las puntuaciones igual o menores a 22 se definieron como cronotipo vespertino[57]. En cuanto a los antecedentes de psicopatología, algunos de los trastornos psiquiátricos se clasificaron en tres agrupaciones: 1.-Trastornos externalizados: Incluye Trastorno por déficit de atención e hiperactividad (cualquier subtipo: de predominio inatento, hiperactivo o de tipo combinado), Trastorno negativista desafiante y Trastorno disocial. 2.- Trastornos Internalizados: Incluye todos los trastornos afectivos y de ansiedad (depresión mayor, trastorno distímico, ansiedad generalizada, Trastorno por estrés postraumático. Y 3.- Mixtos: Cuando coexistan al menos un trastorno del espectro internalizado y externalizado.

Para la distribución de normalidad para las variables cuantitativas se utilizó la prueba de Kolmogorv-Smirnof de una muestra. Cuando la distribución fue no normal, se utilizó la prueba estadística de Kruskall-Wallis para determinar las diferencias entre las variables de tres o más

categorías como el cronotipo, las frecuencias del polimorfismo del gen CLOCK T3111C y las categorías de los valores de laboratorio. Se utilizó la prueba estadística U Man-Whitney para aquellas variables de dos categorías como el sexo. Y cuando encontrara una distribución normal en variables de tres o más categorías se utilizó la prueba estadística ANOVA y para variables de dos categorías se utilizó la prueba T de Student.

VII. Consideraciones éticas

El estudio se realizará de acuerdo a los principios generales estipulados en declaración de Helsinki (Asociación Médica Mundial 2008). A todos los sujetos y familiares se les solicitará consentimiento informado, mismo en el que se brinda la explicación del estudio, ante dos testigos y el médico responsable. El no participar en el proyecto no excluye al paciente de recibir la atención médica necesaria y si se retira del mismo, no afectará esa decisión su tratamiento. Los datos generados en la investigación serán utilizados únicamente con fines científicos y no se les dará otro uso, salvo autorización escrita y expresa de los pacientes y de los comités antes mencionados, guardando la absoluta confidencialidad de los pacientes que accedan a participar.

Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud. Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección I. Investigación sin riesgo; Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquéllos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta. Los datos generados en la investigación serán utilizados únicamente con fines científicos (Diario Oficial de la Federación 1983)

VIII. Resultados

Descripción de la población

De un total de 354 adolescentes se excluyeron 5 por no cumplir con criterios de inclusión. Un total de 185 (53.2%) masculinos (M) y 163 (46.8%) femeninos (F) fueron incluidos en este estudio con N=348, la mediana de edad para todos los adolescentes fue de 14 años (RIQ 3) y la mediana de edad para los masculinos y los femeninos fue de 14 años (RIQ±3) y 15 años (RIQ±2) años. Los indicadores clínicos y de laboratorio se encuentran resumidos en la **tabla 1**.

De acuerdo a los estándares diagnósticos de algunas pruebas de laboratorio y de valores de referencias institucionales se categorizó cada una de las pruebas de laboratorio las cuales se compararon entre masculinos y femeninos, existiendo diferencias significativas ($p = <0.005$ a <0.05) entre ambos géneros, para las categorías de glucosa, TSH, T3, Ácido Úrico y HDL. Y el total de valores alterados de laboratorio se encuentran resumidos en la **gráfica de calor 1**. Las frecuencias de las categorías de los valores de laboratorio las podemos observar en las siguientes series de **gráficas de pastel 1 a 13 en la sección de anexo 2**.

Tabla 1.- Descriptivos de las características clínicas y de laboratorio en adolescentes con psicopatología ^a

| | Masculinis | | Femeninis | | TOTAL | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------|--------------------------------------|----------------|---|----------------|
| | X (DE-RIQ) | Frecuencia (%) | X (DE-RIQ) | Frecuencia (%) | X (DE-RIQ) | Frecuencia (%) |
| Edad ^e | 15 (2)/ 185 (53.7) | | 14 (3)/ 163 (46.8) | | 14 (3)/ 348 (100) | |
| Antropometría | | | | | | |
| Peso ^e | 58 (16)/ 182 (53.2) | | 55.2 (16)/ 160 (46.8) | | 57 kg (16.1)/342 (100) | |
| Talla ^e | 1.65 (0.10)/ 182 (53.2) | | 1.57 (0.07)/ 160 (46.8) | | 160 cm (0.11)/ 342 (100) | |
| IMC ^{b,e} | 21 (5.6)/ 182 (53.2) | | 22.7 (5.4)/ 160 (46.8) | | 21.8 kg/m ² (5.6)/ 342 (100) | |
| Porcentaje de Grasa ^e | 18.7 (11.2)/ 97(52.4) | | 28.5 (9.2)/ 88 (54) | | 24.7 (13.2)/185 (53.2) | |
| Circunferencia abdominal ^d | 79.15 (11.06)/ 75 (40.5) | | 76.94 (12.37)/ 70 (42.9) | | 78.0 (11.72)/145 (41.7) | |
| Signos Vitales | | | | | | |
| TA sistólica ^c | 100 (10)/ 155 (51.7) | | 100 (20)/ 145 (48.3) | | 100 mm/Hg (18)/ 300 (100) | |
| TA diastólica ^c | 70 (10)/ 155 (51.7) | | 66 (10)/ 145 (48.3) | | 70 mm/Hg (10) 300 (100) | |
| Frecuencia respiratoria | 20 (2)/ 164 (52.2) | | 19 (29)/ 150 (47.8) | | 20 resp x min (2)/ 314 (100) | |
| Frecuencia cardíaca ^e | 75 (12)/ 164 (52.2) | | 73 (10)/ 150 (47.8) | | 74 lat x min (12)/ 314 (100) | |
| Glucosa ^{c,e} | 90 (7.0)/ 179(53.6) | | 88.16 (7.2) ^d / 155(46.4) | | 90 mg/dl (8.3)/334 (100) | |
| Acido Úrico ^d | 5.8 (1.14)/ 179 (53.4) | | 4.5 (1.21)/ 156 (46.6) | | 5.2 (1.35)/335 (100) | |
| Colesterol ^{c,e} | 146.3 (27.7) ^d /174 (54.2) | | 150 (34)/ 147 (45.8) | | 147 mg/dl (34) 321 (100) | |
| HDL ^{c,d} | 43.3 (11.42)/ 58 (51.8) | | 46.12 (12.65)/ 54 (48.2) | | 44.7 (12.05)/ 112 (100) | |
| LDL ^{c,d} | 85.15 (27.2)/ 59 (51.8) | | 87.4 (24.5)/ 55 (48.2) | | 86.24 (12)/ 114 (100) | |
| Triglicéridos ^{c, e} | 87 (66)/ 170 (53.8) | | 94.5 (60)/ 146 (46.2) | | 91 mg/dl (62)/ 316 (100) | |
| TSH ^e | 2 (1.31)/ 176 (53.7) | | 2.08 (1.62)/ 152 (46.3) | | 2.07 (1.47)/ 328 (100) | |
| T4 total ^e | 7.7 (2.25)/ 176 (53.7) | | 8.3 (1.56)/ 152 (46.3) | | 8.1 (1.24)/ 328 (100) | |
| T3 total ^e | 131 (38)/ 175 (53.7) | | 123 (33)/ 151 (46.3) | | 127 (32.5)/ 326 (100) | |
| Leucocitos totales ^e | 6.17 (2.1)/ 178 (53.9) | | 7.08 (2.4)/ 152 (46.1) | | 6.6 (2.4)/330 (100) | |

a. N=348

b. Índice de Masa Corporal Percentilado para la Edad y Género.

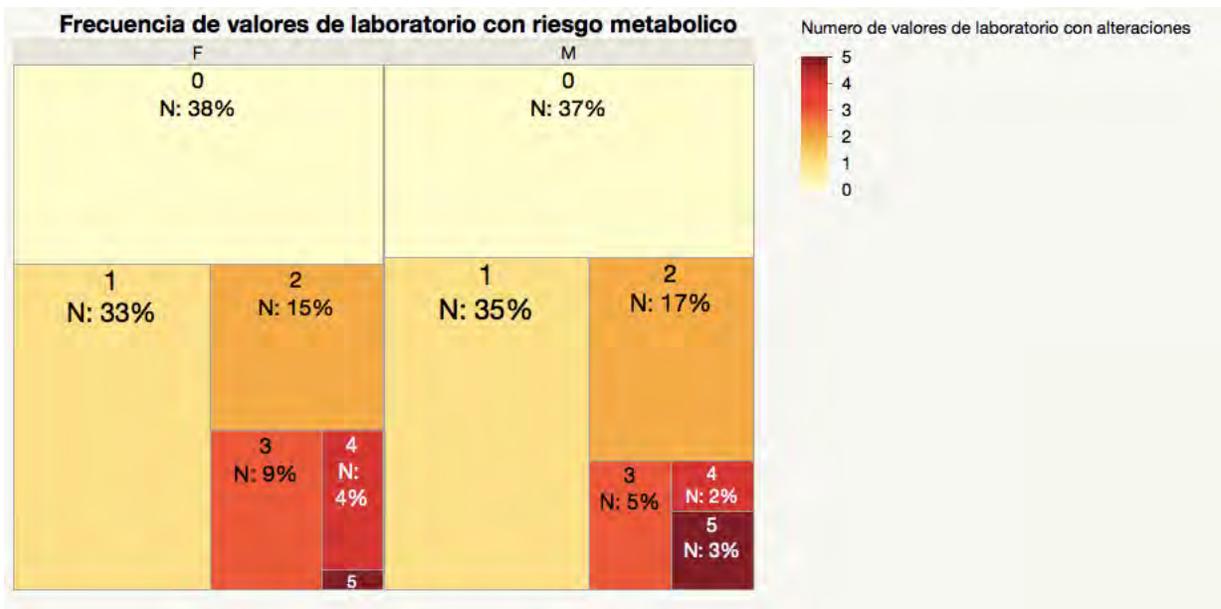
c. Estandarizados para la Edad y Género.

d. Media (Desviación Estándar).

e. Mediana (Rango Intercuartilar).

Grafica de calor 1.

Total de valores alterados de laboratorio



- Sin valores alterados n=130 (37.4%):
 - Masculinos=68 (36.8%), Femeninos=62 (38%).
- Un valor alterado n=119 (34.2%):
 - Masculinos=65 (35,1%), Femeninos=54 (33.1%).
- Dos valores alterados n=56 (16.1%):
 - Masculinos =32 (17.3%) Femeninos =24 (14.7%).
- Tres valores alterados n=25 (7.2%):
 - Masculinos =10 (5.4%) Femeninos =15 (9.2%).
- Cuatro valores alterados n=11 (3.2%):
 - Masculinos =4 (2.2%) Femeninos =7 (4.3%).
- Cinco valores alterados n= 7 (2%):
 - Masculinos =6 (3.2%) Femeninos =1 (0.6%).

No existieron diferencias significativas en el numero de valores de laboratorio alterado en entre géneros, n=218 (62.6%): Masculinos=117 (63.2%) Femeninos=101 (62%).

Descripción de los antecedentes de psicopatología

De acuerdo a los estándares diagnósticos de antecedentes de psicopatología. Se encontró diferencias significativas ($p = <0.005$ a <0.05) entre géneros para algunos antecedentes, siendo más frecuentes en femeninos el trastorno depresivo mayor, el trastorno de ansiedad generalizada, las crisis de angustia, la fobia específica, el trastorno de alimentación y las conductas para suicidas. Para los masculinos, fueron más frecuentes el trastorno por déficit de atención y el trastorno negativista desafiante. Las descripciones de los antecedentes de psicopatología se encuentran en la **tabla 2**, por su baja frecuencia no se incluyeron en la tabla los diagnósticos de esquizofrenia: F=1 (0.6%) y al TBP I: F=2 y TBP II: M=1(.3%) y F=1 (.3%). El número acumulado de los antecedentes de psicopatología aparecen concentrados en la **gráfica de calor 2**.

Existieron diferencias significativas entre géneros siendo más afectadas las femeninas para los trastornos internalizados, $n=288$ (82.2%): Masculinos=139 (75.1%), Femeninos= 149 (91.4%) $X^2=16.08$ ($p<0.000$). Para los trastornos externalizados los masculinos fueron los mayormente afectados, $n=259$ (74.4%): Masculinos=154 (83.2%), Femeninos=105 (64.4%) $X^2=16.13$ ($p<0.000$). Sin diferencias en trastornos mixtos, $n=201$ (57.8%): Masculinos= 109 (58.9%), Femeninos=92 (56.4%) $X^2=.218$ ($p .641$).

Tabla 2.- Descriptivos de trastornos psiquiátricos y antecedentes de psicopatología a lo largo de la vida

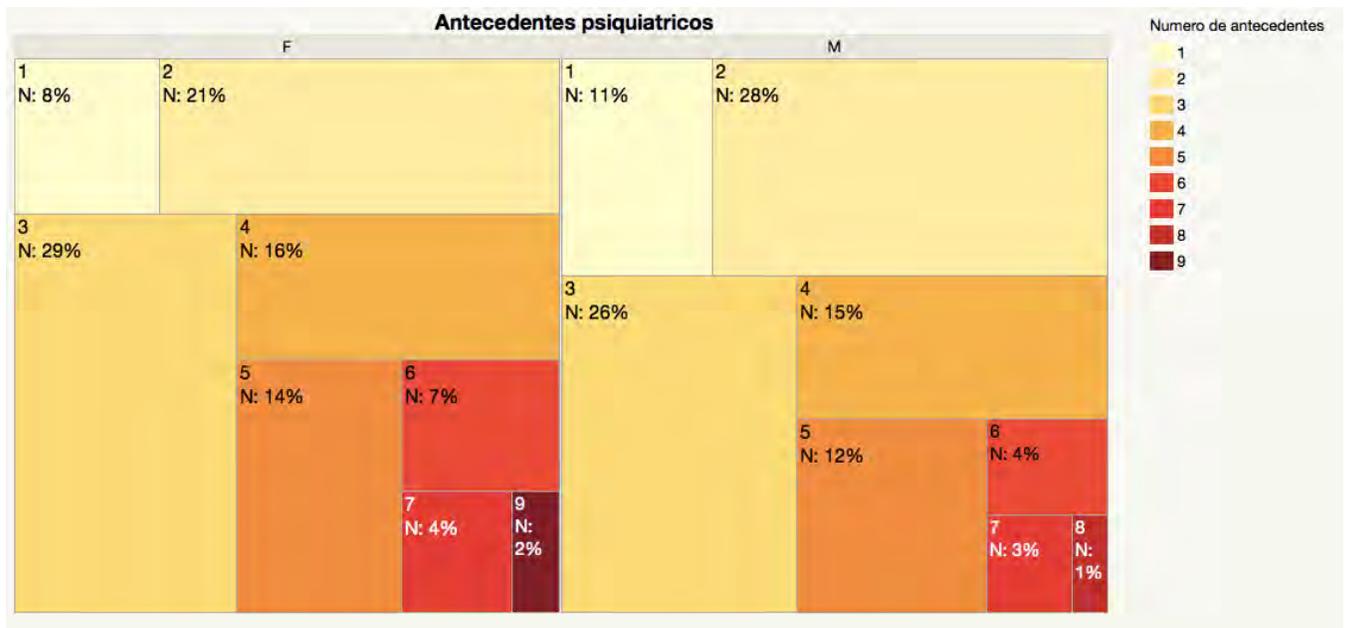
| | Masculinos | Femeninos | Total | |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---|
| | Frecuencia (%) | Frecuencia (%) | Frecuencia (%) | X² Pearson/ Valor (p) |
| Trastorno Depresivo Mayor | 97 (52) | 121 (74.2) | 218 (62.6) | 17.9/(p<0.00) |
| Distimia | 15 (8.1) | 8 (4.9) | 23 (6.6) | 1.4/(NS) |
| Trastorno de ansiedad por separación | 23 (12.4) | 21 (12.9) | 44 (12.6) | 0.01/(NS) |
| Trastorno de ansiedad generalizada | 41 (22.2) | 59 (36.2) | 100 (28.7) | 8.3/(p<0.004) |
| Trastorno de ansiedad no especificado | 40 (21.6) | 29 (17.8) | 69 (19.8) | .80/(NS) |
| Crisis angustia | 12 (6.5) | 59 (36.2) | 41 (11.8) | 10.1/(p<0.001) |
| Fobia especifica | 24 (13) | 36 (22.1) | 60 (17.2) | 5.0/(p<0.025) |
| Fobia social | 21 (11.4) | 27 (16.6) | 48 (13.8) | 1.9/(NS) |
| Trastorno de estrés postraumático | 8 (4.3) | 13 (8) | 21 (6) | 2.0/(NS) |
| TOC | 11 (5.9) | 7 (4.3) | 18 (5.2) | .48/(NS) |
| Trastorno por déficit de atención e hiperactividad | 137 (39.4) | 84 (24.1) | 221 (63.5) | 18.9/(p<0.00) |
| Trastorno negativista desafiante | 115 (62.2) | 78 (47.9) | 193 (55.5) | 7.1/(p<0.007) |
| Trastorno de conducta | 39 (21.1) | 27 (16.6) | 66 (19.0) | 1.1/(NS) |
| Tics y Gilles de la Tourette | 7 (3,8) | 3 (1.8) | 10 (2.9) | 1.1/(NS) |
| Trastorno de la alimentación | 7 (3.8) | 16 (9.9) | 23 (6.6) | 5.1/(p<0.023) |
| Trastorno por uso de alcohol y otras sustancias | 13 (3.7) | 13 (3.7) | 26 (7.5) | .11/(NS) |
| Enuresis | 11 (5.9) | 12 (7.4) | 23 (6.6) | .28/(NS) |
| Encopresis | 3 (1.6) | 1 (0.6) | 4 (1.1) | .77 ^b /(NS) |
| Conductas para suicidas | 12 (3.4) | 35 (10.1) | 47 (13.5) | 16.6/(p<0.00) |
| Abuso sexual, físico y psicológico | 18 (5.2) | 21 (6.0) | 39 (11.2)/ | .86/(NS) |
| Disfunción familiar | 40 (21.6) | 34 (20.9) | 74 (21.3) | .03/(NS) |

a. Diagnóstico realizado por BPRS

b. Exacta de Fisher

Gráfica de calor 2.

Total de antecedentes psiquiátricos



- Un antecedente psiquiátrico n=5:
 - Masculinos=2 (11%), Femeninos=3 (8%).
- Dos antecedentes psiquiátricos n= 32:
 - Masculinos=20 (28%) Femeninos=12 (21%).
- Tres antecedentes psiquiátricos n=85:
 - Masculinos=52 (26%) Femeninos= 33(29%).
- Cuatro antecedentes psiquiátricos n=95:
 - Masculinos=48 (15%) Femeninos=47 (16%).
- Cinco antecedentes psiquiátricos n=52:
 - Masculinos=27 (12%) Femeninos=25 (14%).
- Seis antecedentes psiquiátricos n=44:
 - Masculinos=22 (4%) Femeninos=22 (7%).
- Siete antecedentes psiquiátricos n=18:
 - Masculinos=7 (3%) Femeninos=11 (4%).
- Ocho antecedentes psiquiátricos n=12:
 - Masculinos=5 (1%) Femeninos=7 (2%).

Descripción de los cronotipos y frecuencias alélicas del Gen CLOCK T3111C

Al comparar hombre y mujeres con las frecuencias de cronotipos y frecuencias alélicas del polimorfismo T3111C del gen CLOCK, no se encontraron diferencias significativas. Se puede observar con detalle las frecuencias de cronotipo y alélicas del gen CLOCK T3111C en la **tabla 3**.

| Tabla 3.-Descriptivo de Cronotipo y Polimorfismos del Gen CLOCK T3111C | | |
|--|-----------------------|-----------|
| | Frecuencia (%) | |
| | Masculino | Femenino |
| Cronotipo^a | 348 (100%) | |
| Vespertino | 113 (61.1) | 85 (52.1) |
| Indiferenciado | 22 (11.9) | 52 (31.9) |
| Matutino | 50 (27) | 26 (7.5) |
| Polimorfismo T3111C^b | 335 (100%) | |
| CC | 8 (4.5) | 9 (5.7) |
| TC | 58 (33) | 51 (32.1) |
| TT | 110 (62.5) | 99 (62.3) |

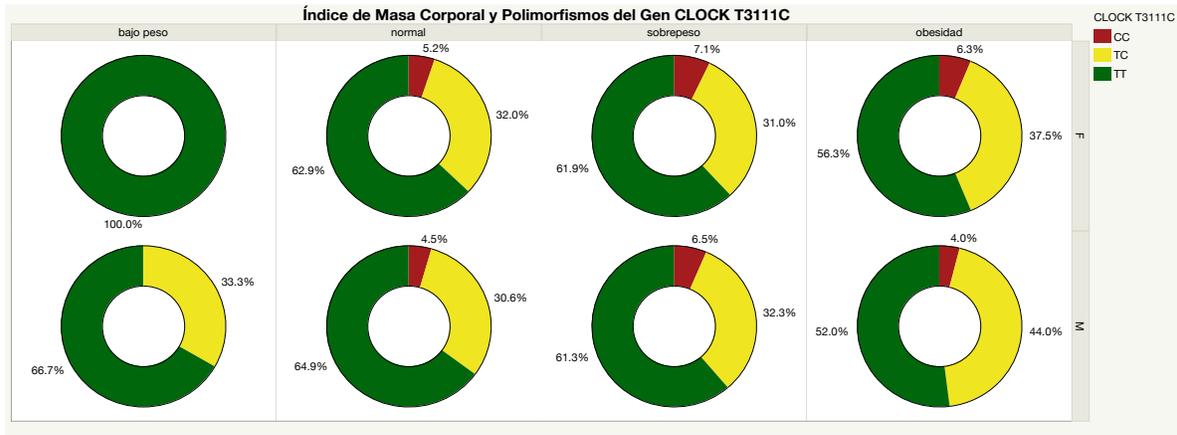
a. Diagnóstico realizado por MESC
b. Genotipificación por PCR

Descripción de la asociación de las frecuencias de cronotipos, polimorfismos del gen CLOCK T3111C, variables clínicas y de laboratorio en adolescentes con psicopatología

Para determinar la probable asociación de las frecuencias alélicas del gen CLOCK T3111C se consideró como alelo de riesgo aquellos individuos que sean portadores del alelo C, se sumaron a los homocigotos CC y heterocigotos TC como individuos con alelo dominante y a los homocigotos TT se les consideró como sin alelo dominante, con una frecuencia de adolescentes con alelo dominante n=126 (37.6%): Masculinos=66 (37.5%), Femeninos=60 (37.7%) sin que existiera diferencias significativas entre géneros, $X^2=.002$ (p=NS). OR=0.990 (IC .636-1.54). A su vez se consideraron como cronotipo de riesgo aquellos que fueran vespertinos y sin cronotipo de riesgo a los matutinos más los indiferenciados, el total adolescentes con cronotipo de riesgo fue n=198 (56.9%) M=113 (61.1%) F=85 (52.1%) $X^2=2.82$ (p=NS). OR=1.440 (IC .940-2.20). Además se catalogó IMC de riesgo metabólico aquellos sujetos con sobrepeso u obesidad y con bajo riesgo metabólico aquellos con desnutrición y peso normal. Del total n=118 (34.5%) M=60 (33.0%) F=58 (36.3%) $X^2=.406$ (p=NS). OR=.865 (IC .553-1.352), Estas asociaciones se pueden observar en las **gráficas de anillos 1 y 2**. La asociación entre las variables metabólicas de riesgo, cronotipos de riesgo y alelo dominante del gen CLOCK T3111C se pueden observar en la **gráfica de puntos 1**.

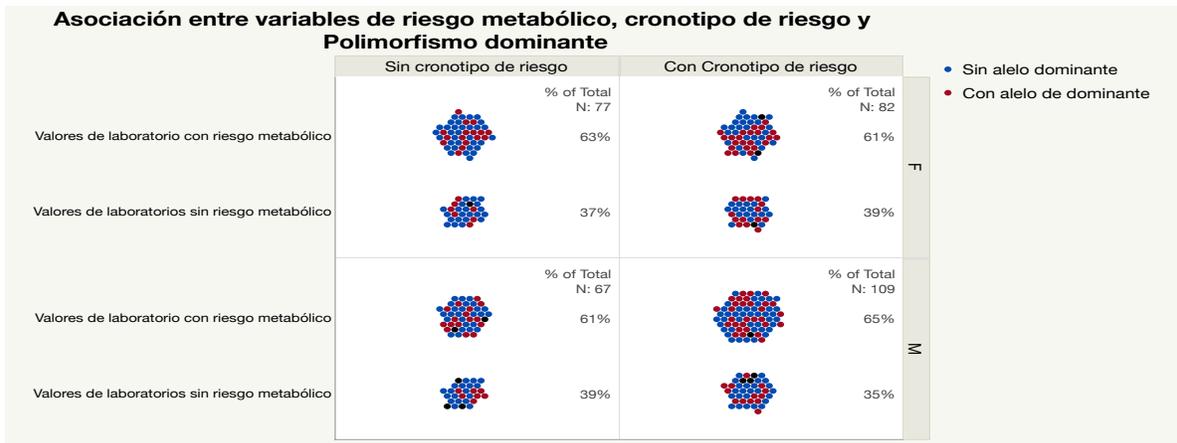
Gráfica de anillos 2

Descriptivo de categorías de IMC y Polimorfismos del Gen CLOCK T3111C



Gráfica de puntos 1

Descriptivo de categorías de IMC y Polimorfismo dominante del Gen CLOCK T3111C



Se encontró asociación en cuanto al alelo dominante y cronotipo de riesgo en las femeninas, $X^2=3.9$, $p=0.047$ (1.93 ,IC 95%1.02-3.8) y en los masculinos una tendencia entre los niveles de ácido úrico considerados de riesgo y el alelo de dominante $X^2=3.0$, $p=0.06$.

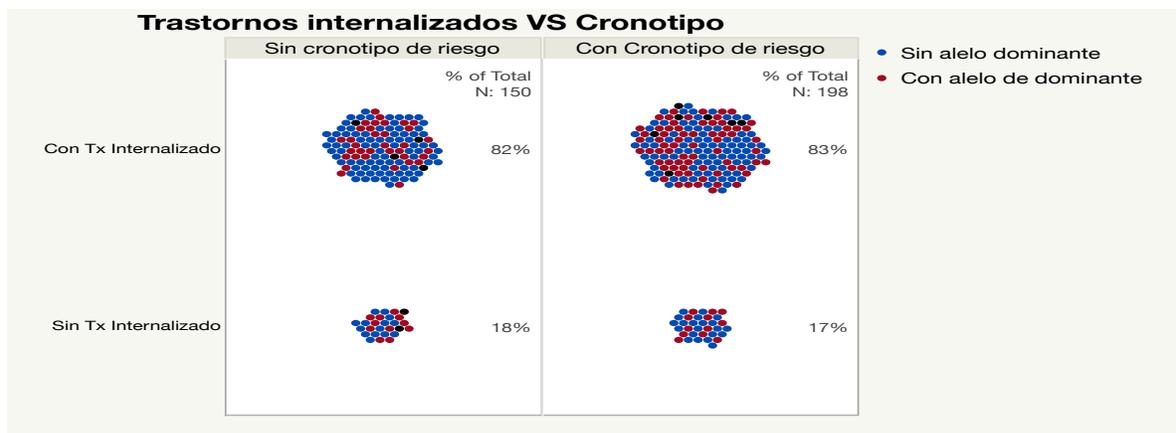
En cuanto a los antecedentes psiquiátricos existieron diferencias significativas entre el cronotipo de riesgo y mayor prevalencia de Trastorno de ansiedad por separación en las femeninas $X^2= 3.59$ $p=$

0.05 (2.5 , IC 95% 1-7) y en ambos géneros existe una tendencia entre el cronotipo de riesgo y mayor frecuencia de disfunción familiar $X^2=3.53, p=0.06$.

El resto de las asociaciones entre las variables de interés se pueden observar en la **tabla 4 y 5 y las gráficas de puntos 2,3 y 4.**

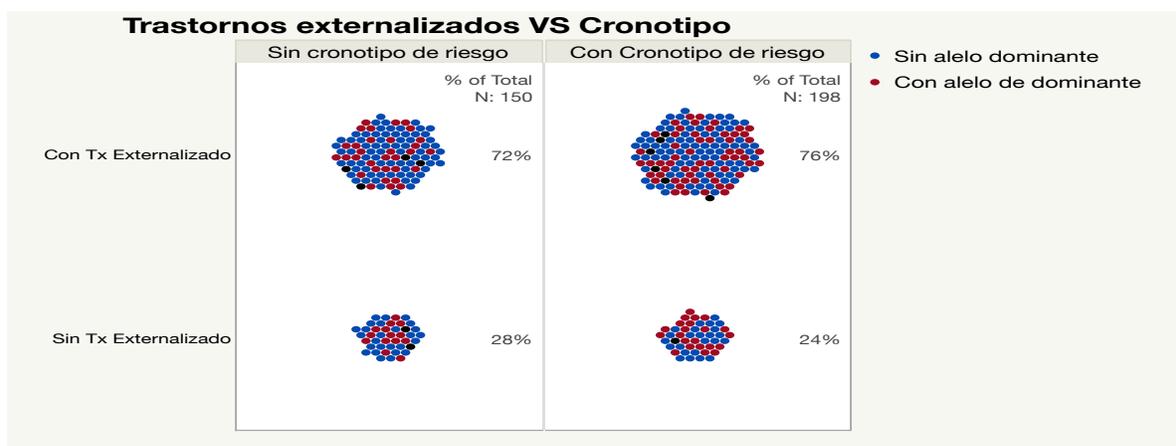
Gráfica de puntos 2.

Descriptivo de los trastornos internalizados, cronotipo de riesgo y Polimorfismo dominante del Gen CLOCK T3111C



Gráfica de puntos 3

Descriptivo de los trastornos externalizados, cronotipo de riesgo y Polimorfismo dominante del Gen CLOCK T3111C



Gráfica de puntos 4

Descriptivo de los trastornos mixtos, cronotipo de riesgo y Polimorfismo dominante del Gen CLOCK T3111C

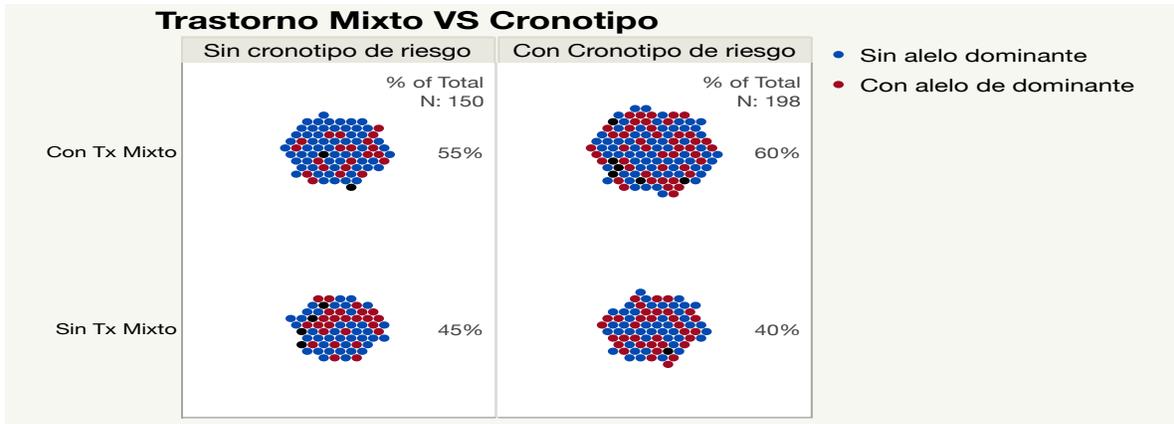


Tabla 4.- Comparación de las características clínicas y de laboratorio en adolescentes con psicopatología con y sin Polimorfismo Dominante del gen CLOCK T3111C

| | T3111C (n=335) | | X ² Pearson | p | OR no ajustado (IC al 95%) |
|--|--------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|-------------|----------------------------|
| | Dominante n(%) / X (DE) | No dominante n(%) / X (DE) | | | |
| Edad | 126(37.6)/14 (2) | 209(62.4)/15 (3) | | | |
| Masculino | 66 (19.7) | 110 (32.8) | .002 | NS | .990 (.60-1.5) |
| Antropometría | | | | | |
| IMC Riesgo | 24(13.9)/22.6(6) | 32 (18.5)/21.5(6) | .93 | NS | 1.25 (0.8 – 2.0) |
| Porcentaje de Grasa | 35 (37.6)/18.7 (11.2) | 58 (62.4)/ 18.5 (11.5) | 1.4 | NS | |
| Circunferencia abdominal | 29 (39.2)/ 79.15(11.06) ^a | 45(60.8)/ 79.15(11.06) ^a | 1.02 | NS | |
| Signos Vitales | | | | | |
| TA sistólica de riesgo | 2 (3.6)/100(10) | 3 (2.0)/100(20) | .06 | NS | 1.20 (0.3 – 5.5) |
| TA diastólica de riesgo | 7 (12.7)/70(10) | 10 (10.9)/64(10) | .06 | NS | 1.1 (0.60 – 2.0) |
| Valores de laboratorio | | | | | |
| Glucosa de riesgo | 6 (9.8)/89.8(6.9) ^a | 13 (11.9)/90(9) | 1.0 | NS | .60 (0.60-1.4) |
| Acido Úrico de riesgo | 7 (12.1)/5.2(1.3) ^a | 25 (24)/ 5.2 (1.4) ^a | 3.0 | 0.06 | 0.40 (0.17-1.0) |
| Colesterol de riesgo | 13 (22.8)/155(31) ^a | 17 (15.7)/148(28) ^a | .90 | NS | 1.30 (0.77-2.3) |
| HDL de riesgo | 10 (40)/46(13) ^a | 14 (46.7)/43 (10) ^a | .60 | NS | .70 (0.35-1.60) |
| LDL de riesgo | 5 (20)/87(24) ^a | 7 (22.6)/85 (27) ^a | .30 | NS | .80 (.31-2.0) |
| Triglicéridos de riesgo | 12 (21.8)/92(66) | 15 (14.2)/90(64) | .80 | NS | 1.30 (0.72-2.6) |
| TSH de riesgo | 3 (4.9)/2.1(1.7) | 7 (6.8)/2(1.2) | .5 | NS | 0.74 (0.33-1.7) |
| T4 total de riesgo | 2 (3.2)/8.2(1.7) | 1 (1.0)/8.1(1.6) ^a | .40 | NS | 1.71 (0.34-8.7) |
| T3 total de riesgo | 11 (17.7)/127 (33) | 10 (9.6)/130(30) ^a | 1.5 | NS | 1.60 (0.7 – 3.1) |
| Leucocitos totales de riesgo | 9 (15)/6.8(2) ^a | 10 (9.3)/6.6(2.3) | .80 | NS | 1.38 (0.68 – 2.8) |
| Cronotipo | | | | | |
| Cronotipo de riesgo^d | 37 (61.7)/26(4) | 45 (45.5)/26(5) | 3.9 | .047 | 1.93 (1.02-3.8) |

- a. Media
- b. Mediana
- c. Chi-cuadrada de Pearson
- d. Femenino

Tabla 5.- Comparación de los antecedentes psiquiátricos en adolescentes con psicopatología a lo largo de la vida con y sin Polimorfismo Dominante de T3111C

| | T3111C (n=335) | | X ² Pearson | p | OR no ajustado (IC al 95%) |
|---|-------------------------|----------------------|------------------------|-----------------|----------------------------|
| | Dominante n(%) | No dominante n(%) | | | |
| Masculino | 66 (19.7) | 110 (32.8) | .002 | NS | 1 (0.6-2.0) |
| | Trastorno mental | | | | |
| Trastorno Depresivo Mayor | 36 (54.5) | 55 (50) | .60 | NS | 1.0 (0.8– 2.0) |
| Distimia | 4 (6.1) | 10 (9.1) | .10 ^d | NS | .90 (0.7 – 1.0) |
| Trastorno de ansiedad por separación | 5 (7.6) | 18 (16.4) | 1.0 | NS | .70 (0.3-1.0) |
| Trastorno de ansiedad generalizada | 14 (21.2) | 27 (24.5) | .40 | NS | 1.0 (0.7-2.0) |
| Crisis angustia | 4 (6.1) | 8 (7.3) | 2.0 ^a | NS | .60 (0.3-1.0) |
| Fobia especifica | 8 (12.1) | 16 (14.5) | .10 | NS | 1.0 (0.6-2.0) |
| Fobia social | 7 (10.6) | 12 (10.9) | 1.0 | NS | 1.0 (0.8-3.0) |
| Trastorno de estrés postraumático | 2 (3.0) | 4 (3.6) | .30 ^a | NS | .80 (0.3-2.0) |
| TOC | 2 (3.0) | 9 (8.2) | .10 ^a | NS | .80 (0.3-2.0) |
| Trastorno de ansiedad no especificado | 15 (22.7) | 23 (20.9) | .40 | NS | 1.0 (0.7-2.0) |
| Trastorno por déficit de atención con hiperactividad | 51 (77.3) | 81 (73.6) | .80 | NS | .80(0.5-1.0) |
| Trastorno negativista desafiante | 37 (56.1) | 72 (65.5) | .50 | NS | .80 (0.5-1.30) |
| Trastorno de conducta | 9 (13.6) | 27 (24.5) | 2.7 | NS | .60 (0.3-1.0) |
| Tics y Gilles de la Tourette | 2 (3.0) | 5 (4.5) | .07 ^d | NS | .80 (0.2-3.0) |
| Trastorno de la alimentación | 6 (10) ^e | 10 (10) ^e | .09 ^e | NS ^e | .80(0.4-2.0) ^e |
| Trastorno por uso de alcohol y otras sustancias | 6 (9.1) | 6 (5.5) | .03 | NS | .90 (0.4– 2.0) |
| Enuresis | 4 (6.1) | 6 (5.5) | .02 ^a | NS | .90 (0.4-2.0) |
| Encopresis | 1 (1.5) | 2 (1.8) | .30 ^d | NS | .50 (0.0-5.0) |
| Conductas para suicidas | 5 (7.6) | 6 (5.5) | .20 | NS | .90 (0.5-2.0) |
| Abuso sexual, físico y psicológico | 6 (9.1%) | 12 (10.9%) | .70 | NS | 1.0 (0.7-3.0) |
| Disfunción familiar | 17 (25.8) | 19(17.3) | .70 | NS | 1.0 (0.7-2.0) |

- a. Mediana de edad
- b. Chi-cuadrada de Pearson
- c. Exacta de Fisher
- d. Femenino

IX. Discusión

De acuerdo a nuestro planteamiento del problema que fue determinar la Relación de los cronotipos y sus variantes genéticas sobre la constitución corporal en adolescentes con psicopatología. Encontramos la asociación entre el cronotipo vespertino considerado de riesgo y el alelo dominante C del gen CLOCK T3111C en las mujeres, al igual que en el estudio de Mishima et al. [64] realizado en población Japonesa, donde alelo C que se tomo como variante de riesgo se asoció a síndrome metabólico en mujeres, específicamente en homocigotos. Existe controversia en estos hallazgos ya que en estudios similares a diferencia de nuestros resultados, el síndrome metabólico se ha asociado con el cronotipo nocturno en mujeres [65, 66]. La falta de relación con las variables metabólicas de riesgo que estudiamos como glucosa, colesterol, LDL y HDL pueden deberse a la edad de los pacientes de nuestra población, a la falta de puntos de corte en niños y adolescentes mexicanos para el diagnóstico de diabetes y dislipidemias, así como la falta de tablas de crecimiento acordes a nuestro contexto.

Hasta donde alcanza nuestro conocimiento acerca de la evidencia científica relacionada con este tema, este estudio es el primero en evaluar otras variables bioquímicas utilizadas para la detección de riesgos cardio-metabólicos como los niveles de ácido úrico; resaltando una posible asociación entre el cronotipo de riesgo, los niveles de ácido úrico considerados de riesgo y el alelo dominante solo en aquellos del sexo masculino, la cual para nuestro estudio mostró solo una tendencia.

Aunque estos resultados se deben tomar con cautela debido a la falta de puntos de corte de niveles de ácido úrico para la población infantil mexicana.

A su vez, a diferencia de otros estudios donde se evaluó la relación y asociación del gen CLOCK T3111C y/o el cronotipo en pacientes con psicopatología. Nosotros encontramos diferencias significativas entre el cronotipo de riesgo, el alelo dominante y el trastorno de ansiedad por separación en las femeninas. Siendo novedoso este hallazgo ya que previamente tanto el cronotipo como el polimorfismo del gen CLOCK T3111C se había asociado con trastornos del estado del ánimo, principalmente con el TBP [67-69] y TDM[68], además de la esquizofrenia[70] y el TDAH[71, 72]. La discrepancia entre estos resultados puede deberse a los diferentes tamaños de muestra, ya que el tamaño de muestra del subgrupo clínico estudios de Benedetti et al[69] y Serretti et al [68] eran bastante pequeños para un estudio genético, haciendo una tipo I error posible.

Si bien en nuestra población de estudio no existieron asociaciones ni relaciones entre estos trastornos, ante lo cual consideramos tres hipótesis, la primera basada en la dificultad para establecer el diagnóstico de TBP y Esquizofrenia en población infantil, la segunda porque el alelo considerado de riesgo y su asociación con el TDAH y TDM en algunos estudios ha sido el alelo T[73, 74]. La tercera basada en los hallazgos controversiales del polimorfismo del gen CLOCK T3111C con el TBP [75] y los trastornos afectivos en general [76, 77] que al igual que en nuestro estudio no existieron asociaciones. Tal vez por las distintas etnias evaluadas, ya que los reportes en la literatura

donde se han encontrado estas asociaciones ha sido en poblaciones con menor grado de mestizaje.

Un aspecto que llamó nuestra atención fue la asociación entre el cronotipo de riesgo y una mayor frecuencia de disfunción familiar encontrada en nuestro estudio, la cual si bien sólo mostró una tendencia en su significancia estadística, de acuerdo a las manifestaciones clínicas de los pacientes evaluados podríamos inferir que en nuestra población existe una probable interacción medioambiental entre la preferencia circadiana y los antecedentes de adversidad psicosocial.

Por otra parte, no encontramos asociaciones o diferencias estadísticamente significativas entre el cronotipo y las variantes genéticas. Ahora bien, los adolescentes que fueron portadores del alelo dominante del gen CLOCK T3111C y/o el cronotipo de riesgo mostraron rangos discretamente mayores en variables clínicas como la tensión arterial y metabólicas, como triglicéridos, colesterol total , LDL y HDL, además de endócrinas como TSH, T3 total y T4 total, así como marcadores inmunológicos indirectos de inflamación como los niveles de Leucocitos totales en comparación con aquellos adolescentes que no lo tuvieron. Los hallazgos previamente mencionados pueden ser debido a la interacción poligénica y de multi causalidad al igual que en otros padecimientos como la diabetes, la hipertensión, las dislipidemias y aquellas alteraciones de la constitución corporal con las cuales se puede realizar el diagnóstico de síndrome metabólico. Atendiendo este punto sería de gran utilidad realizar estudios de investigación de pedigree familiar o poligénicos para contar con un panorama más

amplio de las implicaciones genéticas en la constitución corporal en adolescentes con psicopatología.

En cuanto a las limitaciones del estudio, reconocemos que el diseño transversal del mismo, interfiere en la interpretación de los valores clínicos y metabólicos ya que no podemos establecer causalidad entre las variables estudiadas. En cuanto a la precisión e interpretación de las características antropométricas, clínicas y de laboratorio nos enfrenamos ante la polémica falta de valores de referencia para población pediátrica mexicana. Siendo del conocimiento común, la diferencias de estos valores entre las diversas etnias del mundo. Y los parámetros de referencia para este estudio en su mayoría fueron obtenidos de poblaciones caucásicas. Las fortalezas de este estudio radican, en que hasta nuestro conocimiento de la literatura científica mexicana es de los primeros en realizar el reporte de las frecuencias del polimorfismo del gen CLOCK T3111C en población infantil con psicopatología, proponiendo a la vez el estudio de otros polimorfismos del gen CLOCK con la finalidad de generar estudios de haplotipo con los cuales obtendríamos un imagen panorámica del problema estudiado.

Esta investigación ha arrojado preguntas que la comunidad científica local debe resolver si pretende continuar con la evaluación metabólica y de constitución corporal en niños y adolescentes mexicanos ya que hasta la fecha carecemos de parámetros de referencia oficiales para nuestra población.

X. Conclusiones

La gran complejidad de este estudio radicó en lograr interpretar las diversas interconexiones entre el sistema circadiano y el sistema metabólico puesto que sabemos que se encuentran íntimamente entrelazadas y la interrupción de uno u otro sistema conduce a desregulaciones recíprocas en el otro. Por medio del mayor conocimiento y entendimiento de estas interconexiones podremos llegar a establecer mejores métodos de diagnóstico y tratamiento en adolescentes con psicopatología. Las vías que conectan el sistema nervioso central y los tejidos periféricos, permiten al mismo activar o silenciar los tejidos periféricos en diferentes momentos del día. Por lo tanto, un desequilibrio entre los ritmos de los diferentes compartimentos de grasa controlados diferencialmente por el sistema nervioso autónomo y, a su vez, por el sistema nervioso central puede ser una posible causa de los valores alterados en las variables clínicas y de laboratorio estudiadas.

ANEXO 1 (Metodología genética)

I. Extracción de ADN

1. Colocar muestras (alícuotas de 400µl) en un baño seco a 37°C por 5 minutos.
2. Encender termo-bloque a 65°C.
3. Preparar campana colocando reactivos, pipetas, puntas, gradilla y papel (2 tiras).
4. Preparar Proteinasa K con Buffer FG2 (10:1000) en un tubo de 2ml.
 - a. Cada muestra necesita 400µl, por lo que se multiplica por el número de muestras y se suman 200µl extras.
 - b. Vortexear para homogeneizar.
5. Añadir 1000µl de Buffer FG1 en cada muestra y mezclar por inversión.
6. Centrifugar por un minuto (en centrífuga a un costado del Nano-drop). Limpiar el interior de la centrífuga con gasa y alcohol para retirar residuos de sangre.
7. Decantar el sobrenadante y limpiar con papel sin perder el pellet (es importante realizarlo en un solo movimiento).
8. Agregar 400µl de la solución preparada en el paso 4 en un tubo, vortexear hasta deshacer el pellet. (Importante hacerlo tubo por tubo, NO colocar la solución en todos los tubos).
9. Centrifugar a un spin y colocar las muestras a 65°C por 5 minutos.
10. Añadir 400µl de isopropanol y agitar fuertemente hasta observar el ADN
11. Centrifugar a 10 000 x g por 3 minutos.
12. Retirar el sobrenadante cuidando de no perder el pellet.
13. Agregar etanol al 70% y vortexear por 5s hasta despegar el pellet.
14. Centrifugar a 10 000 x g por 3 minutos.
15. Retirar sobrenadante y colocar las muestras boca abajo por 5 minutos.
16. Colocar los tubos abiertos en la gradilla por 5 minutos para secar el etanol restante.
17. Agregar 100µl de Buffer FG3 y vortexear hasta disolver el ADN.
18. Colocar por 1hr en un baño a 65°C.
19. Poner muestras en refrigeración.

II. Medición de la concentración

1. Ubicar material y reactivos
 - a. 1 alícuota de H₂O PCR
 - b. Papel rasurado
 - c. Pipeta con puntas de 10µl
 - d. Buffer FG3.
2. Calentar muestras por 15 minutos a 65°C
3. Centrifugar y vortexear.
4. Prender computadora y abrir software NanoDrop 2000.
5. Seguir la ruta My Data>Amado>Proyecto RCA
6. Limpiar pedestal con 2µl de H₂O PCR y presionar OK.
7. Colocar 2µl de Buffer FG3 y clicar Blank

8. Homogenizar muestras.
9. Colocar número de muestra en el campo destinado.
10. Medir por duplicado cada muestra (la variación entre cada lectura debes ser menor al 10%).
11. Limpiar pedestal y repetir paso 8 y 9.

III. Concentración/Dilución de muestras

Concentración de muestras:

1. Checar que el nivel de agua en el Hetovac se encuentre sobre la marca
2. Encender (RUN & HEAT), prender bomba y abrir vacío.
3. Colocar muestras con una concentración menor a 50ng/μl. Poner una marca en donde se encuentra el volumen inicial.
4. Dejar concentrar por una hora.
5. Apagar el equipo (RUN & HEAT)
6. Apagar la bomba y cerrar vacío al mismo tiempo y rápidamente
7. Volver a medir las concentraciones.

Dilución de muestras:

1. Calcular el promedio de concentración de muestras mayores a 50ng/μl.
2. De acuerdo a $C_1V_1=C_2V_2$, sabemos que la concentración deseada es 50ng/μl en un volumen final de 20μl, mientras que la concentración inicial es conocida de acuerdo a las mediciones realizadas.
3. Colocar el volumen calculado de muestra en un tubo nuevo y llevar a un volumen final de 20μl con Buffer FG3.

IV. Re-extracción de muestras

Aquellas muestras que tengan poca calidad y/o mantengan la misma concentración aunque se sometan al protocolo de concentración en la sección pasada se deberá purificar el ADN por el método de Fenol-Cloroformo-Isoamílico 25:24:1.

1. Añadir 100μl de Fenol-Cloroformo-Isoamílico 25:24:1 a una muestra de 100μl.
2. Mezclar las fases manualmente y vortexear por un minuto a nivel 6.
3. Centrifugar a 10,000 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente (en centrífuga Eppendorf 5415C) para separar las fases.
4. Transferir la fase superior a un tubo de 1.5ml nuevo, cuidando de NO romper las fases y solamente obtener la fase acuosa superior.
5. Añadir 100μl de Fenol-Cloroformo-Isoamílico 25:24:1
6. Repetir el paso 3 y 4.
7. Agregar 100μl de Cloroformo-Alcohol Isoamílico 24:1 y mezclar por 10 minutos en Vari-Mix a la máxima amplitud.
8. Repetir pasos 3 y 4.
9. Añadir 10μl de Acetato de Sodio 3M, pH 5.2 y vortexear por 15 segundos a nivel 6.

10. Añadir 200µl de Etanol 100% frío y mezclar vigorosamente para precipitar el ADN.
11. Centrifugar a máxima velocidad por 10 minutos a temperatura ambiente (en centrifuga Eppendorf 5415C).
12. Decantar el etanol sin perder el pellet y escurrir el exceso en papel.
13. Repetir pasos 10 y 11.
14. Decantar el etanol y vortexear brevemente a nivel 4.
15. Secar el pellet en Heto-VR1 por 15 minutos.
16. Agregar 100µl de reactivo FG3 para re-suspender el pellet y vortexear por 10 segundos a nivel 4.
17. Calentar a 65°C por una hora
18. Almacenar las muestras re-extraídas a 4°C.

V. Reacción en cadena de la polimerasa: Punto final

1. Irradiar material por 15 minutos
2. Centrifugar y vortexear buffer y MgCl₂
3. Re-pipetear primers y dNTPs
4. Hacer Mix de acuerdo a la siguiente tabla, multiplicando el volumen especificado en cada renglón por el número de muestras, contando el blanco, control y error de pipeteo(+3):

| Reactivo | Volumen (µl) |
|----------------------|--------------|
| H ₂ O PCR | 4.35 |
| Buffer | 1 |
| MgCl ₂ | 0.6 |
| dNTPs | 1 |
| DMSO | 0.5 |
| Primer F | 0.25 |
| Primer R | 0.25 |
| Taq Pol | 0.05 |

5. Encender termociclador
 - a. Seguir la siguiente ruta: Amado > CLOCK
 - b. Seleccionar: Mod1=1, Volumen=10µl
6. Colocar muestras en congelación hasta realizar el gel de amplificación.

Preparación de Reactivos

Preparación de Primers

Cada alícuota contiene 10µl de primers a 100µM, por lo que se debe agregar 90µl de agua para PCR.

Preparación de dNTPs

Para 300µl de dNTPs

| Reactivo | Volumen |
|----------|---------|
| dATP | 60µl |
| dTTP | 60µl |
| dCTP | 60µl |
| dGTP | 60µl |
| Agua PCR | 60µl |

VI. Confirmación de amplificación

1. Pesar .45 g de agarosa y verter en un matraz (125ml) con 30ml de TBE 1X.
2. Pesar el matraz y anotar.
3. Calentar hasta obtener una mezcla homogénea y transparente (calentar sin que el líquido se salga del matraz).
4. Armar la cámara de electroforesis mientras el gel se enfría:
 - a. Nivelar la cámara.
 - b. Colocar soportes.
 - c. Colocar peines.
5. Verter el gel en la cámara por una esquina, cuidando de no hacer burbujas.
6. Una vez que el gel solidifique, quitar los soportes y peines.
7. Llenar la cámara con TBE .5X hasta cubrir el gel.
8. Preparar peso molecular:
 - a. Agregar 1µl de peso molecular diluido (1:20) de la marca *BioLabs*.
 - b. Añadir 2µl de buffer de carga y 1µl de agua PCR
9. Preparar muestras:
 - a. Agregar 2µl de amplificado y 2µl de buffer de carga.
 - b. Homogenizar.
10. Cargar peso molecular y muestras en el gel. Es importante anotar el orden en la bitácora para evitar confusiones.
11. Correr el gel a 80-78 V por 20 minutos
12. Preparar Bromuro de Etidio:
 - a. Añadir 10 gotas de Bromuro de Etidio con 500 ml de agua mili-Q.
13. Colocar el gel dentro de la solución de bromuro por 10 minutos en constante agitación en Mistral Multimixer.
14. Tomar fotografía y guardar el archivo con el nombre del proyecto y la fecha.

VII. Corte con enzima de restricción

1. Colocar material en el Crosslinker
2. Descongelar H₂O PCR
3. Prender termo-bloque a 37°C
4. Centrifugar muestras y pipetear
5. Vortexear Buffer Bsp 4 por 1 minuto a velocidad 4

6. Centrifugar BSA a un spin y pipetear
7. Hacer mix de acuerdo a la siguiente tabla (multiplicar el volumen especificado por el número de muestras, sumar 3 más por error de pipeteo):

| Reactivo | Volumen [μ l] |
|----------------------|--------------------|
| H ₂ O PCR | 6.5 |
| Buffer Bsp 4 | 1 |
| BSA | 0.1 |
| Bsp 1286i | 0.4 |

8. Agregar 8 μ l de Mix y 2 μ l de muestra por tubo.
9. Incubar muestras a 37°C por toda la noche.
10. Centrifugar y congelar las muestras digeridas.

VIII. Genotipaje con gel de poliacrilamida

1. Armar los soportes de ambos geles y colocar los peines,
2. Preparar acrilamida 40%, TBE 10X y PSA 10% un día antes.
3. Armar la trampa de vacío, así como preparar la campana de extracción con las pipetas y puntas necesarias.
4. Agregar en un matraz kitazato los siguientes reactivos:

| Reactivo | Volumen [ml] |
|----------------|--------------|
| Acrilamida 40% | 11.67 |
| TBE 10X | 4 |
| Glicerol | 2.8 |
| Agua | 23.67 |

5. Agitar al vacío por 5 minutos.
6. Apagar vacío y agregar 30.8 μ l TEMED y 308 μ l de PSA 10% (Seguir agitando al agregar).
7. Colocar la mezcla rápidamente en los soportes con ayuda de una pipeta de transferencia
8. Preparar muestras:
 - a. Agregar 2 μ l de gel de carga a los 10 μ l de muestra digerida.
9. Preparar peso molecular:
 - a. Agregar 1 μ l de peso molecular diluido (1:20) de la marca *BioLabs*.
 - b. Añadir 2 μ l de buffer de carga y 1 μ l de agua PCR
10. Agregar 5 litros de TBE 1X a la cámara hasta la marca RUN, colocar los soportes y cargar las muestras
11. Conectar la cámara a la fuente de BIORAD
 - a. Encender fuente y presionar MANUAL.
 - b. Establecer Amperaje constante a 31mA
12. Correr el gel por 40 minutos
13. Preparar Bromuro de Etidio:
 - a. Añadir 10 gotas de Bromuro de Etidio con 500 ml de agua mili-Q.

14. Colocar el gel dentro de la solución de bromuro por 10 minutos en constante agitación.
15. Tomar fotografía y guardar el archivo con el nombre del proyecto y fecha. Anotar los genotipos obtenidos en la base de datos.

Preparación de reactivos

Preparación de TBE10X

- a) Para preparar 250ml
 - a. TRIS base 27g
 - b. Ácido bórico 13.75g
 - c. EDTA .5M pH 8 10 ml
- b) Colocar en un vaso de precipitados en agitación
- c) Filtrar al vacío

Preparación de EDTA .5M

1. Para 500ml de solución
 - a. 93.05g de EDTA.2H₂O
 - b. 350ml de agua mili-Q
2. Ajustar pH con 10g de NaOH.
3. Aforar.
4. Filtrar al vacío.
5. Esterilizar.

Preparación de poliacrilamida

1. Para preparar un gel
 - a. Acrilamida 38.66g
 - b. Bis-acrilamida 1.33g
2. Aforar a 100 ml con agua mili-Q y calentar a 37°C
3. Guardar a 4°C

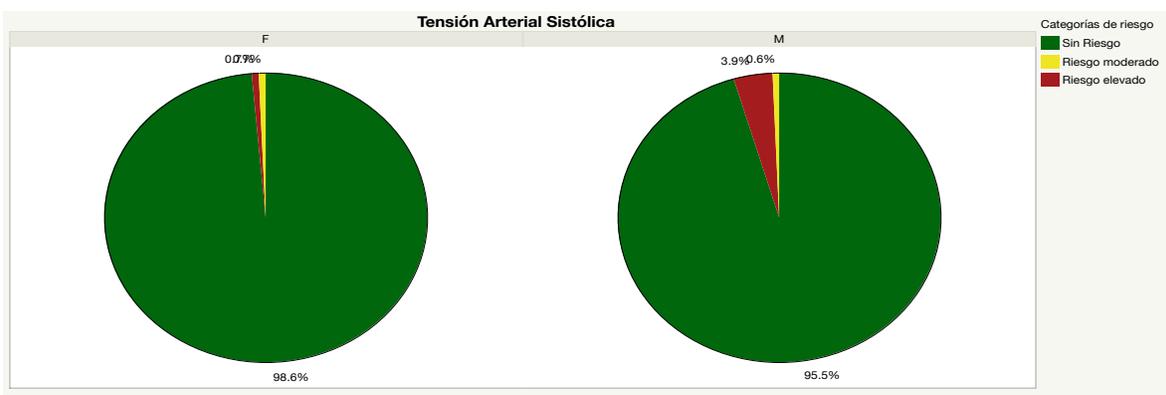
Preparación de PSA 10%

| | |
|----------------------|-----|
| Reactivo | |
| Persulfato de amonio | .1g |
| Agua | 1ml |

ANEXO 2. (Gráficos)

Gráfica de pastel 1.

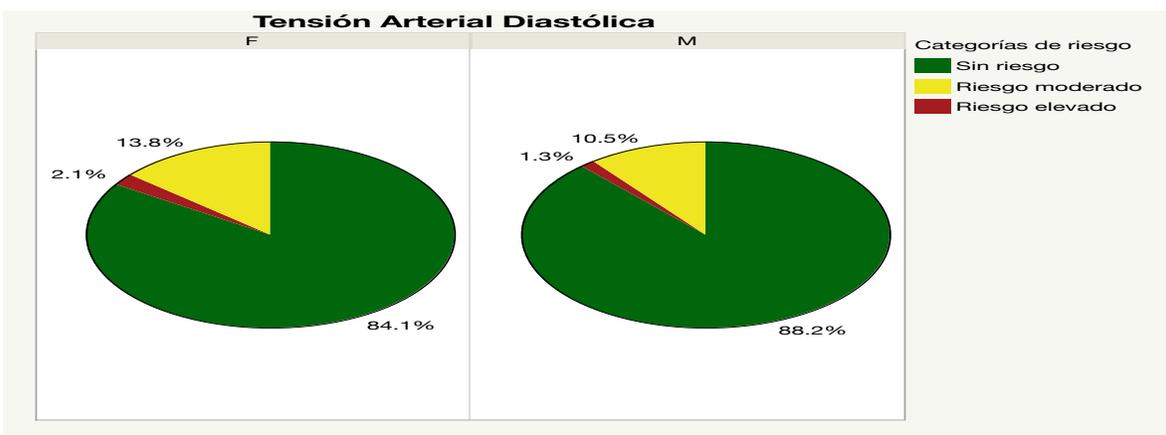
Categorías de Tensión Arterial Sistólica



- TAS sin riesgo n=290 (97%):
 - Masculinos=147 (95.5%), Femeninos=143 (98.6%).
- TAS riesgo moderado n=2 (0.7%):
 - Masculinos=1 (0.7%), Femeninos=1 (0.7%).
- TAS riesgo elevado n=7 (2.34%):
 - Masculinos=6 (3.9%), Femeninos=1 (0.7%).

Gráfica de pastel 2.

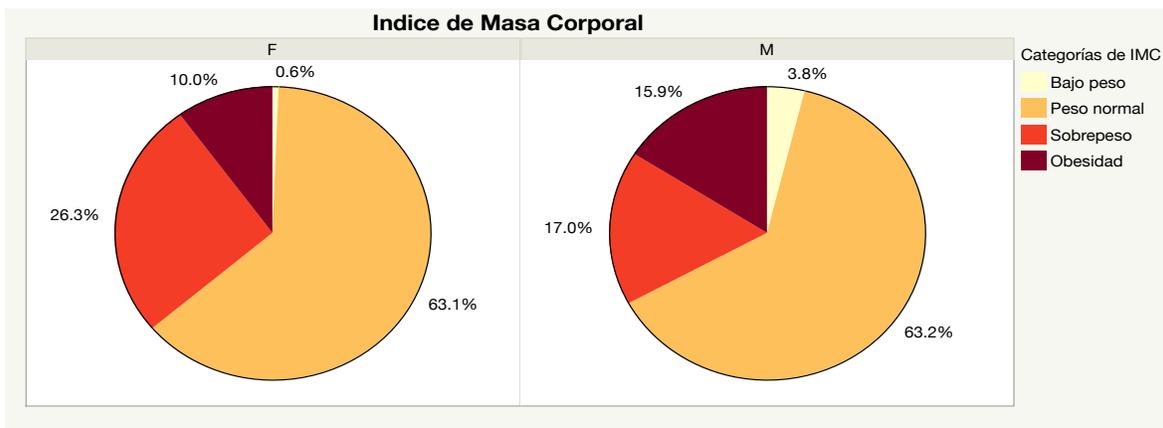
Categorías Tensión Arterial Diastólica



- TAS sin riesgo n=257 (86.2%):
 - Masculinos=135 (88.2%), Femeninos=122 (84.1%).
- TAS riesgo moderado n=36 (12%):
 - Masculinos=16 (10.4%), Femeninos=20 (13.8%).
- TAS riesgo elevado n=5 (1.7%):
 - Masculinos=2 (1.3%), Femeninos=3 (2.1%).

Gráfica de pastel 3.

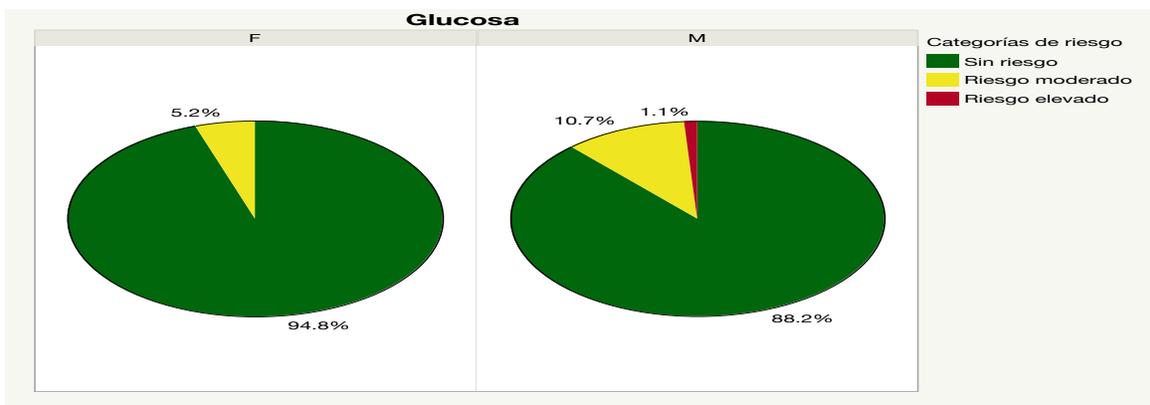
Categorías de IMC



- Bajo peso n=8 (2.3%):
 - Masculinos=7 (3.8%), Femeninos=1 (0.6%).
- Peso normal n= 216 (63.2%):
 - Masculinos=115 (63.2%), Femeninos= 101 (63.1%).
- Sobrepeso n=73 (21.3%):
 - Masculinos=31 (17.0%), Femeninos=42 (26.3%).
- Obesidad n=45 (13.2%):
 - Masculinos=29 (15.9%), Femeninos=16 (10%).

Gráfica de pastel 4.

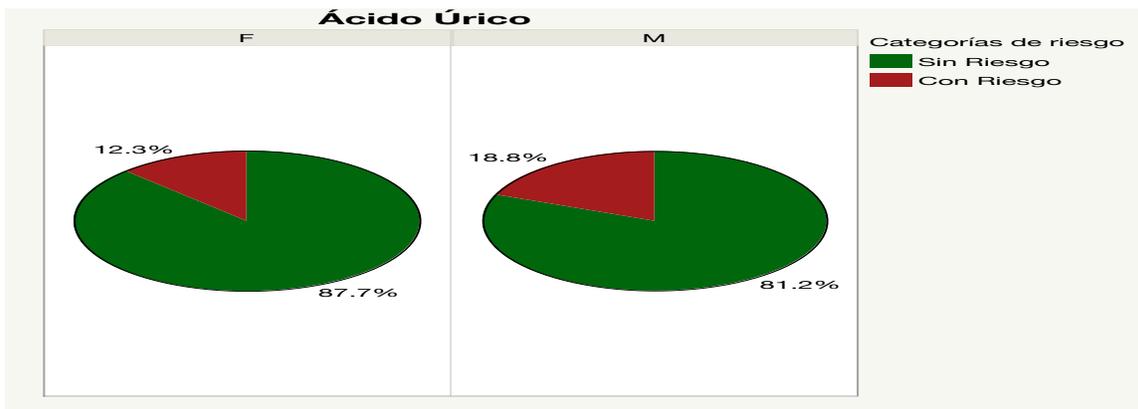
Categorías de Glucosa



- Glucosa menor a 99mg/dl (Sin riesgo) n=304 (91.3%):
 - Masculinos=157 (88.2%), Femeninos=147 (94.8%).
- Glucosa entre 100-109 mg/dl (Riesgo moderado) n=27 (8.1%):
 - Masculinos=19 (10.7%) Femeninos= 8 (5.2%)
- Glucosa entre 110-124 mg/dl (Riesgo elevado) n=2 (0.6%):
 - Masculinos=2 (1.1%)

Gráfica de pastel 5.

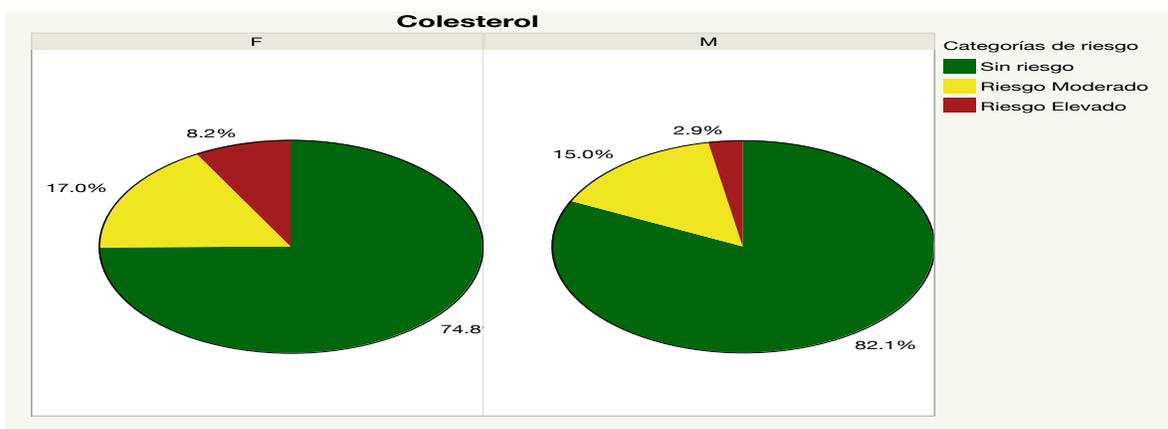
Categorías de Ácido Úrico



- Ácido úrico (sin riesgo) n=273 (84.0%):
 - Masculinos=138 (81.2%) Femeninos=135 (87.7%).
- Ácido úrico (con riesgo) n=51 (15.7%):
 - Masculinos=32 (18.8%) Femeninos=19 (12.3%).

Gráfica de pastel 6.

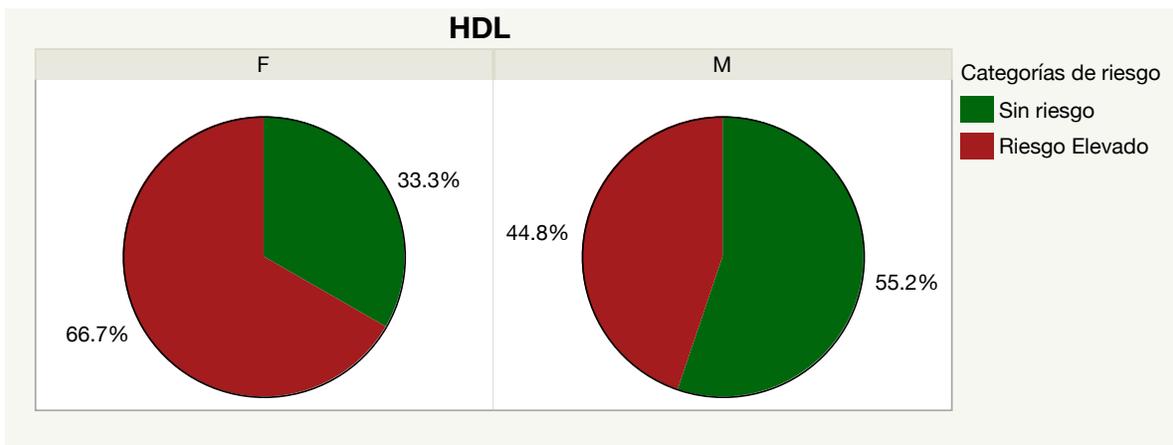
Categorías de Colesterol



- Colesterol menor igual a 169 mg/dl (Sin riesgo) n=252 (78.8%):
 - Masculinos=142 (82.1%), Femeninos=110(74.8%).
- Colesterol entre 170-199 mg/dl (Riesgo moderado) n=51 (15.9%):
 - Masculinos=26 (15%), Femeninos=25 (17%).
- Colesterol por arriba de 200 mg/dl (Riesgo elevado) n=17 (5.3%):
 - Masculinos=5 (2.9%), Femeninos=12 (8.2%).

Gráfica de pastel 7.

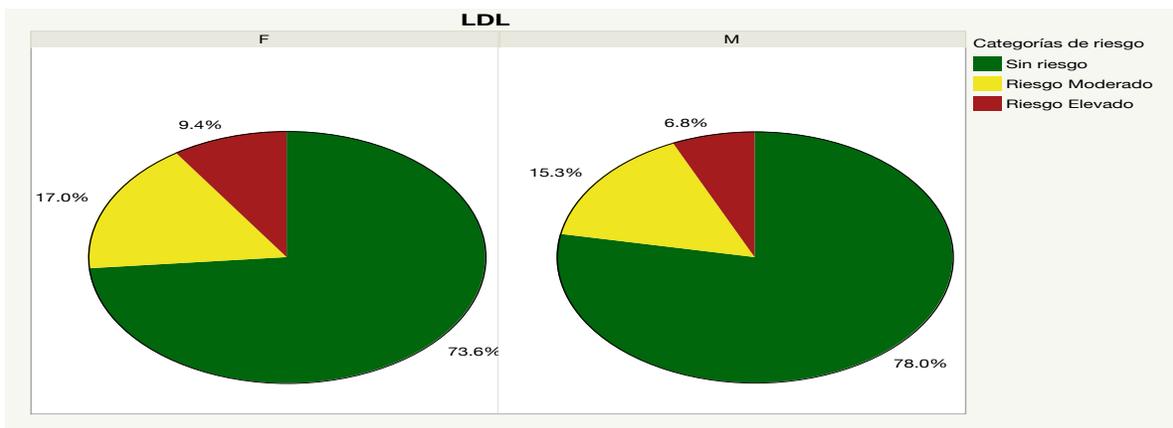
Categorías de Colesterol HDL



- HDL sin riesgo n=50 (44.6%):
 - Masculinos=32 (55.2%, Femeninos=18 (33.3%),
- HDL con riesgo n=62 (55.4%):
 - Masculinos= 26 (44.8%), Femeninos=36 (66.7%)

Gráfica de pastel 8.

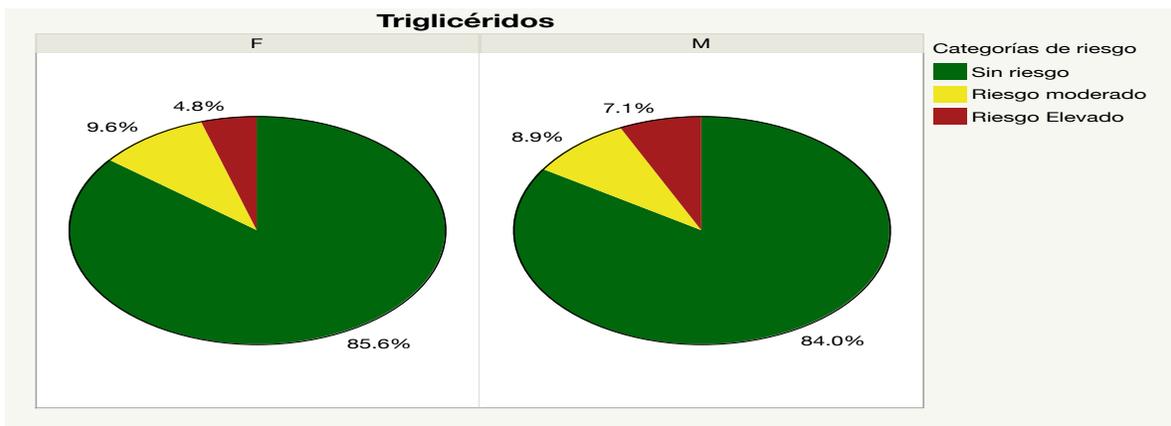
Categorías de Colesterol LDL



- LDL menor a 99 mg/dl (Sin riesgo) n=85 (75.9%):
 - Masculinos=46 (78%), Femeninos=39 (73.6%).
- LDL entre 100-129 mg/dl (Riesgo moderado) n=18 (16.1%):
 - Masculinos=9 (15.3%) Femeninos=9 (17%).
- LDL mayor 130 mg/dl (Riesgo elevado) n= 9 (8%):
 - Masculinos=4 (6.8%), Femeninos=5 (9.4%).

Gráfica de pastel 9.

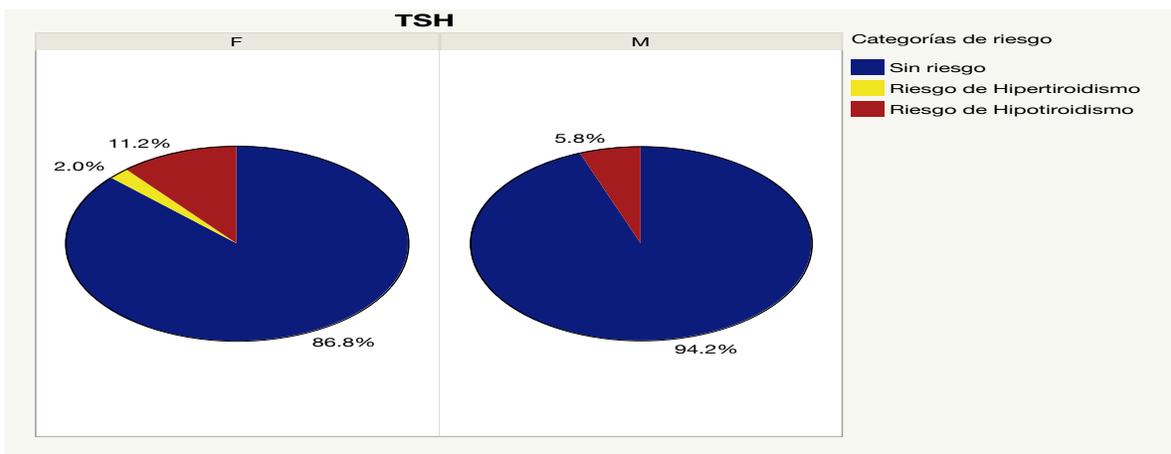
Categorías de Triglicéridos



- Triglicéridos menor a 149 mg/dl (Sin riesgo) n=267 (84.8%):
 - Masculinos=142 (84%), Femeninos=125 (85.6%).
- Triglicéridos 150-199 mg/dl (Riesgo moderado) n=29 (9.2%):
 - Masculinos=15 (8.9%), Femeninos=14 (9.6%).
- Triglicéridos entre 200 mg/dl-499 mg/dl (Riesgo elevado) n=19 (6.0%):
 - Masculinos=12 (7.1%), Femeninos=7 (4.8%).

Gráfica de pastel 10.

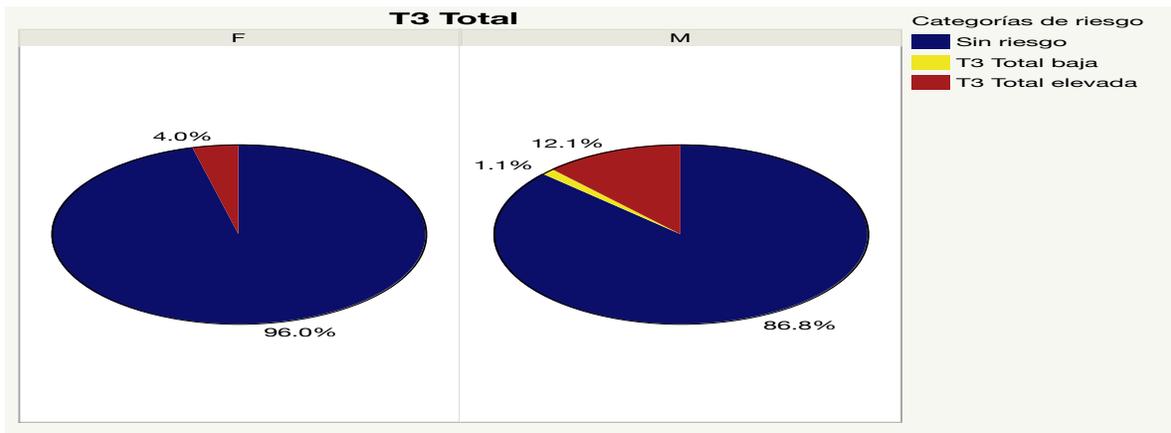
Categorías de TSH



- TSH entre 0.4-4.0 uIU/ml (Sin riesgo) n=294 (90.7%):
 - Masculinos=162 (94.2%), Femeninos=132 (86.8%).
- TSH menor a 0.3 uIU/ml (Riesgo hipertiroidismo) n=3 (0.9%):
 - Femeninos=3 (2.0%).
- TSH mayor a 4.1 uIU/ml (Riesgo hipotiroidismo) n=17 (11.2%):
 - Masculinos=10 (5.8%), Femeninos=7 (11.2%).

Gráfica de pastel 11.

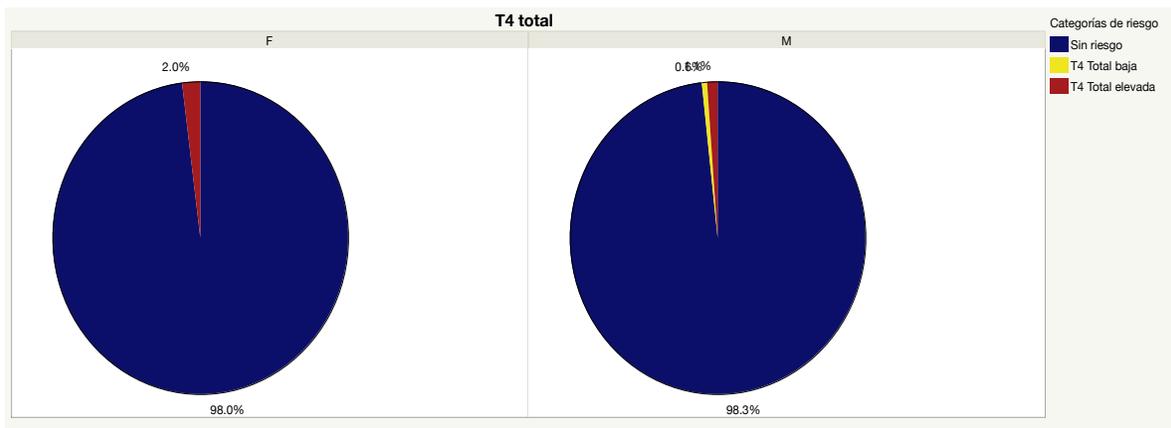
Categorías de T3 total



- T3 total entre 70-170 ng/dl (Sin riesgo) n=296 (91.1%):
 - Masculinos=151 (86.8%), Femeninos=145 (96%).
- T3 total menor de 69 ng/dl (baja) n=2 (0.6%):
 - Masculinos=2 (1.1%).
- T3 total mayor a 171 ng/dl (elevada) n=27 (12.1%):
 - Femeninos=6 (4.0%).

Gráfica de pastel 12.

Categorías de T4 total



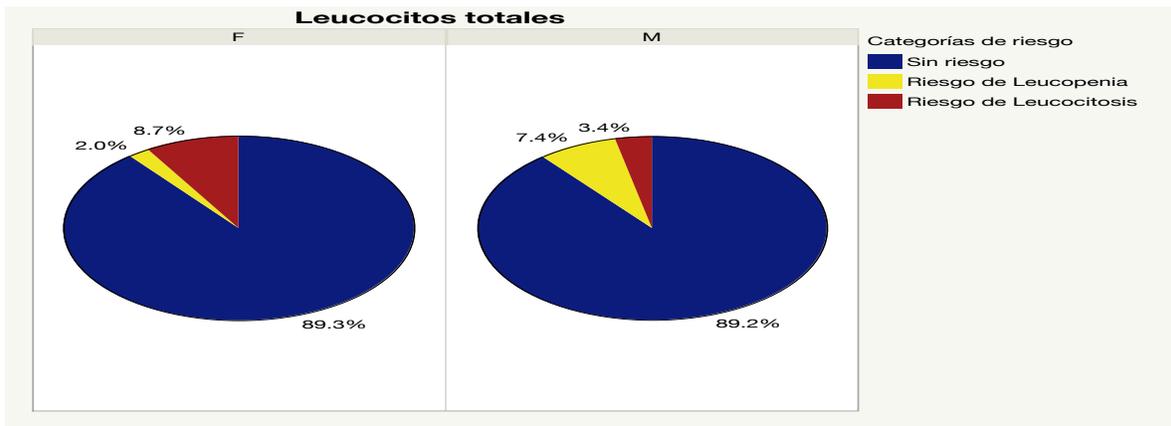
T4 total entre 4.5-12.5 ug/dl (Sin riesgo) n=321 (98.2%) M=172 (98.3%) F=149 (98.0%).

T4 total menor a 4.4 ug/dl (baja) n=1 (0.3%) M=1 (0.6%).

T4 total alta igual o mayor a 12.6 ug/dl (elevada) n= 5 (1.5%) M=2 (1.1%)F=3 (2.0%).

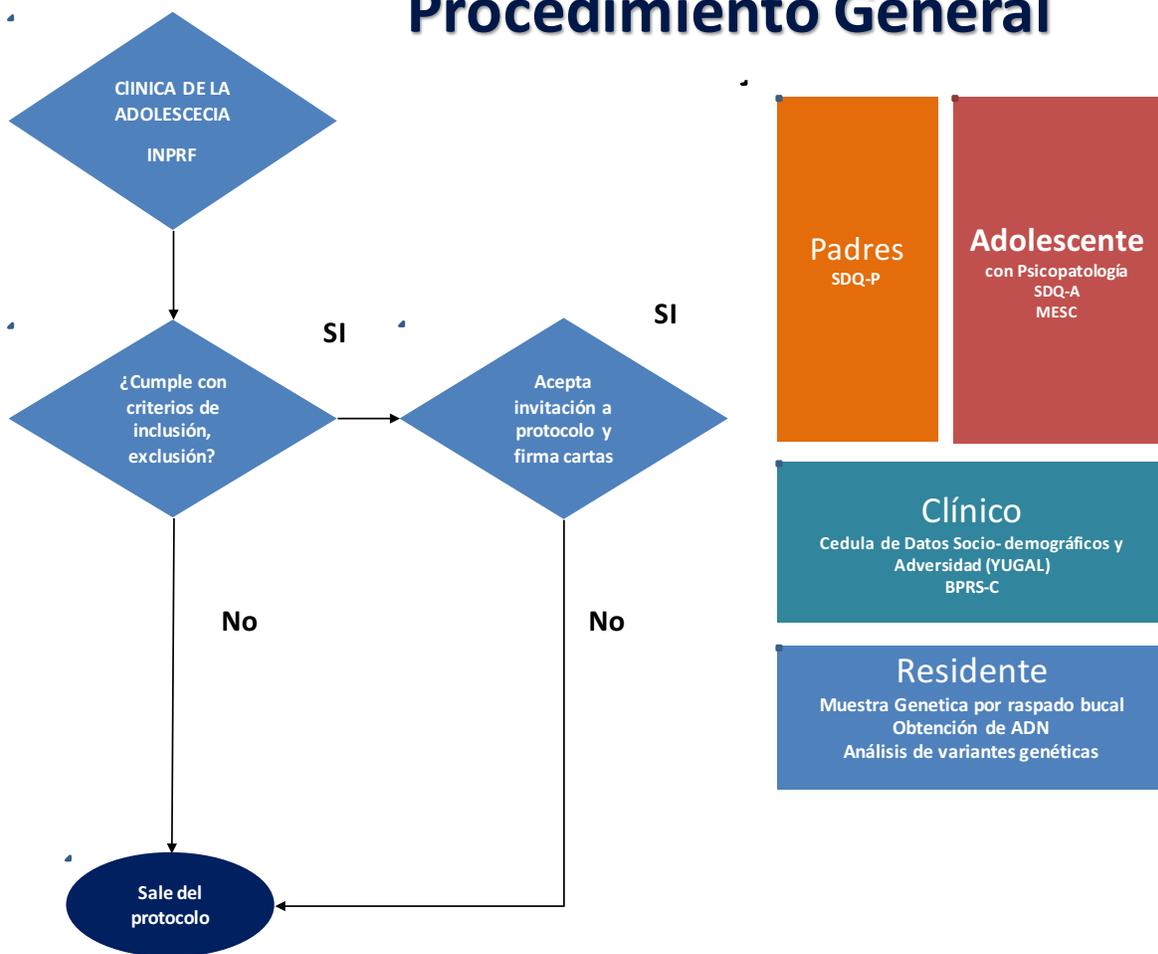
Gráfica de pastel 13.

Categorías de Leucocitos totales



- Leucocitos totales entre $4.5-10.5 \times 10^3/\text{ul}$ (Sin riesgo) $n=291$ (89.3%):
 - Masculinos=157 (89.2%) Femeninos=134 (89.3%).
- Leucocitos totales menor a $4.4 \times 10^3/\text{ul}$ (Riesgo de leucopenia) $n=16$ (4.9%):
 - Masculinos=13 (7.4%), Femeninos=3 (2.0%).
- Leucocitos totales mayor a $10.6 \times 10^3/\text{ul}$ (Riesgo leucocitosis) $n=19$ (5.8%):
 - Masculinos=6 (3.4%), Femeninos=13 (8.7%)

Procedimiento General



Bibliografía

1. Gutiérrez JP, et al., *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales*. Instituto Nacional de Salud Pública (MX), 2012., 2012: p. 1-200.
2. Eduardo García-García, et al., *La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. Una reflexión*. Salud Pública de México, 2008. **50**(6): p. 1-18.
3. Gallagher, D. and M.Y. Song, *Evaluation of body composition: practical guidelines*. Prim Care, 2003. **30**(2): p. 249-65.
4. Kuczmarski RJ, O.C. and e.a. Guo SS, *2000 CDC Growth Charts for the United States- Methods and Development*. National Center for Health Statistics. Vital Health Stat, 2010. **11**(246): p. 1-203.
5. Ncd-RisC, N.C.D.R.F.C., *Articles Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants*. The Lancet, 2016. **387**(10026): p. 1377-1396.
6. Zimmet, P., et al., *The metabolic syndrome in children and adolescents*. The Lancet, 2007. **369**(9579): p. 2059–2061.
7. Organization, W.H., *OBESITY: PREVENTING AND MANAGING*. World Health Organ Tech Rep Ser. , 2000: p. 1-268.
8. Benjet C, et al., *La depresión con inicio temprano: prevalencia, curso natural y latencia para buscar tratamiento*. Salud Publica Mex., 2004. **46**(5): p. 1-8.
9. Borges G, et al., *Treatment and Adequacy of Treatment of Mental Disorders Among Respondents to the Mexico National Comorbidity Survey*. Am J Psychiatry. , 2006. **163**(8): p. 1-8.
10. Benjet, C., et al., *Youth mental health in a populous city of the developing world: results from the Mexican Adolescent Mental Health Survey*. Journal of Child Psychology and Psychiatry, 2009. **50**(4): p. 386-395.
11. Medina Mora, M.E., et al., *Psychiatric disorders in Mexico: lifetime prevalence in a nationally representative sample*. The British Journal of Psychiatry, 2007. **190**(6): p. 521-528.
12. Garaulet, M. and J.A. Madrid, *Chronobiological aspects of nutrition, metabolic syndrome and obesity*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2010. **62**(9-10): p. 967-978.
13. Tahira, K., et al., *Obesity alters the expression profile of clock genes in peripheral blood mononuclear cells. Preliminary results*. Archives of Medical Science, 2011. **6**: p. 933-940.
14. Bell, C.G., A.J. Walley, and P. Froguel, *The genetics of human obesity*. Nat Rev Genet, 2005. **6**(3): p. 221-34.
15. Walley, A.J., J.E. Asher, and P. Froguel, *The genetic contribution to non-syndromic human obesity*. Nature Publishing Group, 2009. **10**(7): p. 431-442.
16. Björntorp, P., *Obesity*. The Lancet, 1997. **350**(9075): p. 423-426.
17. Ott, J., J. Wang, and S.M. Leal, *Genetic linkage analysis in the age of whole-genome sequencing*. Nat Rev Genet, 2015. **16**(5): p. 275-84.
18. State, M.W., et al., *The Genetics of Childhood Psychiatric Disorders: A Decade of Progress*. Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry, 2000. **39**(8): p. 946-962.
19. Slatkin, M., *Linkage disequilibrium--understanding the evolutionary past and mapping the medical future*. Nat Rev Genet, 2008. **9**(6): p. 477-85.

20. Feinleib, M., et al., *The NHLBI twin study of cardiovascular disease risk factors: methodology and summary of results*. Am J Epidemiol, 1977. **106**(4): p. 284-5.
21. Stunkard, A.J., T.T. Foch, and Z. Hrubec, *A twin study of human obesity*. Jama, 1986. **256**(1): p. 51-4.
22. Stunkard, A.J., et al., *An adoption study of human obesity*. N Engl J Med, 1986. **314**(4): p. 193-8.
23. Must A, et al., *The Disease Burden Associated With Overweight and Obesity*. JAMA. , 1999. **282**(16): p. 1-7.
24. Guerdjikova, A.I., et al., *Psychiatric and metabolic characteristics of childhood versus adult-onset obesity in patients seeking weight management*. Eating Behaviors, 2007. **8**(2): p. 266-276.
25. Warschburger, P., *The unhappy obese child*. International Journal of Obesity, 2005. **29**: p. S127-S129.
26. Britz B, et al., *Rates of psychiatric disorders in a clinical study group of adolescents with extreme obesity and in obese adolescents ascertained via a population based study*. Int J Obes Relat Metab Disord., 2000. **12**: p. 1-8.
27. Cappuccio, F.P., et al., *Meta-Analysis of Short Sleep Duration and Obesity in Children and Adults*. Sleep, 2008. **31**(5): p. 619-626.
28. Zanquetta, M.M., et al., *Expression of Clock Genes in Human Subcutaneous and Visceral Adipose Tissues*. Chronobiology International, 2012. **29**(3): p. 252-260.
29. Morris, C.J., et al., *The Human Circadian System Has a Dominating Role in Causing the Morning/Evening Difference in Diet-Induced Thermogenesis*. Obesity, 2015. **23**(10): p. 2053-2058.
30. Roberts, R.E., et al., *Prospective association between obesity and depression: evidence from the Alameda County Study*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2003. **27**(4): p. 514-21.
31. Williams, L.J., et al., *Lifetime psychiatric disorders and body composition: a population-based study*. J Affect Disord, 2009. **118**(1-3): p. 173-9.
32. Xu, Q., D. Anderson, and J. Lurie-Beck, *The relationship between abdominal obesity and depression in the general population: A systematic review and meta-analysis*. Obesity Research & Clinical Practice, 2011. **5**(4): p. e267-e278.
33. Atlantis, E. and M. Baker, *Obesity effects on depression: systematic review of epidemiological studies*. Int J Obes (Lond), 2008. **32**(6): p. 881-91.
34. Holtkamp, K., et al., *Overweight and obesity in children with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder*. International Journal of Obesity, 2004. **28**(5): p. 685-689.
35. Han, J.C., D.A. Lawlor, and S.Y. Kimm, *Childhood obesity*. The Lancet, 2010. **375**(9727): p. 1737-1748.
36. Maloney, A.E., *Pediatric Obesity: A Review for the Child Psychiatrist*. Pediatric Clinics of NA, 2011. **58**(4): p. 955-972.
37. Lader, M.H., *The nature and duration of treatment for GAD*. Acta Psychiatrica Scandinavica, 1998. **98**: p. 109-117.
38. Ford, D.E. and L. Cooper-Patrick, *Sleep disturbances and mood disorders: an epidemiologic perspective*. Depress Anxiety, 2001. **14**(1): p. 3-6.
39. Adan, A. and V. Natale, *Gender differences in morningness-eveningness preference*. Chronobiol Int, 2002. **19**(4): p. 709-20.

40. Paine, S.J., P.H. Gander, and N. Travier, *The epidemiology of morningness/eveningness: influence of age, gender, ethnicity, and socioeconomic factors in adults (30-49 years)*. J Biol Rhythms, 2006. **21**(1): p. 68-76.
41. Roenneberg, T., et al., *Epidemiology of the human circadian clock*. Sleep Med Rev, 2007. **11**(6): p. 429-38.
42. Horne, J.A. and O. Ostberg, *A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms*. Int J Chronobiol, 1976. **4**(2): p. 97-110.
43. Selvi, Y., et al., *Mood changes after sleep deprivation in morningness–eveningness chronotypes in healthy individuals*. Journal of Sleep Research, 2007. **16**(3): p. 241-244.
44. Natale, V., A. Adan, and P. Scapellato, *Are seasonality of mood and eveningness closely associated?* Psychiatry Res, 2005. **136**(1): p. 51-60.
45. Ong, J.C., et al., *Characteristics of Insomniacs with Self-Reported Morning and Evening Chronotypes*. Journal of Clinical Sleep Medicine : JCSM : official publication of the American Academy of Sleep Medicine, 2007. **3**(3): p. 289-294.
46. Murray, G., et al., *Therapeutic Mechanism in Seasonal Affective Disorder: Do Fluoxetine and Light Operate Through Advancing Circadian Phase?* Chronobiology International, 2005. **22**(5): p. 937-943.
47. Murray, G., *Diurnal mood variation in depression: a signal of disturbed circadian function?* J Affect Disord, 2007. **102**(1-3): p. 47-53.
48. Mansour, H.A., et al., *Circadian phase variation in bipolar I disorder*. Chronobiol Int, 2005. **22**(3): p. 571-84.
49. PhD, V.M.C. and N.A.W. PhD, *Normal Sleep in Children and Adolescents*. Child and Adolescent Psychiatry Clinics of NA, 2009. **18**(4): p. 799-811.
50. Roeser, K., et al., *Health-Related Quality of Life in Adolescent Chronotypes—A Model for the Effects of Sleep Problems, Sleep-Related Cognitions, and Self-efficacy*. Chronobiology International, 2012. **29**(10): p. 1358-1365.
51. Urbán, R., T. Magyaródi, and A. Rigó, *Morningness-Eveningness, Chronotypes and Health-Impairing Behaviors in Adolescents*. Chronobiology International, 2011. **28**(3): p. 238-247.
52. Karatsoreos, I.N., *Effects of Circadian Disruption on Mental and Physical Health*. Current Neurology and Neuroscience Reports, 2012. **12**(2): p. 218-225.
53. Harb, A., et al., *Night eating patterns and chronotypes A correlation with binge eating behaviors*. Psychiatry Research, 2012. **200**(2-3): p. 489-493.
54. Barclay, N.L., et al., *Monozygotic Twin Differences in Non-shared Environmental Factors Associated with Chronotype*. Journal of Biological Rhythms, 2013. **28**(1): p. 51-61.
55. Barclay, N.L., et al., *Sleep quality and diurnal preference in a sample of young adults: Associations with 5HTTLPR, PER3, and CLOCK 3111*. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics, 2011. **156**(6): p. 681-690.
56. Vieira, E., et al., *Altered Clock Gene Expression in Obese Visceral Adipose Tissue Is Associated with Metabolic Syndrome*. PLOS ONE, 2014. **9**(11): p. e111678-11.
57. Díaz-Morales, J.F. and C. Escribano, *Circadian Preference and Thinking Styles: Implications for School Achievement*. Chronobiology International, 2013. **30**(10): p. 1231-1239.

58. Hahn, C., et al., *Circadian rhythms in executive function during the transition to adolescence: the effect of synchrony between chronotype and time of day*. *Developmental Science*, 2012. **15**(3): p. 408-416.
59. Peigneux, P., *Age-related changes in sleep and circadian rhythms: impact on cognitive performance and underlying neuroanatomical networks*. 2012: p. 1-11.
60. David Goldstein, C.S.H., Lynn Hasher, Ursula J. Wiprzycka, and Philip David Zelazo, *Time of day, Intellectual Performance, and Behavioral Problems in Morning Versus Evening type Adolescents: Is there a Synchrony Effect?* NIH Public Access, *Pers Individ Dif.*, 2008. **42**(3): p. 1-9.
61. Camacho-Guerrero and J.O.-S. I.José Rodríguez-Zepeda, E.Eunice Rodríguez-Arellano, M.Musalem-Younes, *Prevalencia de obesidad en preescolares, escolares y adolescentes en el Hospital Regional Licenciado Adolfo López Mateos del ISSSTE Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 2015. - **152-157**.
62. *Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents: Full Report*, in *PsycEXTRA Dataset*. 2011, American Psychological Association (APA).
63. *The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents*. *Pediatrics*, 2004. **114**(2 Suppl 4th Report): p. 555-76.
64. Mishima, K., et al., *The 3111T/C polymorphism of hClock is associated with evening preference and delayed sleep timing in a Japanese population sample*. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2005. **133b**(1): p. 101-4.
65. Kripke, D.F., et al., *Genotyping Sleep Disorders Patients*. *Psychiatry Investig*, 2010. **7**(1): p. 36-42.
66. Song, H.M., et al., *Association of CLOCK, ARNTL, PER2, and GNB3 polymorphisms with diurnal preference in a Korean population*. *Chronobiol Int*, 2016. **33**(10): p. 1455-1463.
67. Lee, K.Y., et al., *Association between CLOCK 3111T/C and preferred circadian phase in Korean patients with bipolar disorder*. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2010. **34**(7): p. 1196-201.
68. Serretti, A., et al., *Genetic dissection of psychopathological symptoms: insomnia in mood disorders and CLOCK gene polymorphism*. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2003. **121b**(1): p. 35-8.
69. Benedetti, F., et al., *Influence of CLOCK gene polymorphism on circadian mood fluctuation and illness recurrence in bipolar depression*. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2003. **123b**(1): p. 23-6.
70. Zhang, J., et al., *The association of CLOCK gene T3111C polymorphism and hPER3 gene 54-nucleotide repeat polymorphism with Chinese Han people schizophrenics*. *Mol Biol Rep*, 2011. **38**(1): p. 349-54.
71. Arns, M., et al., *Geographic Variation in the Prevalence of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: The Sunny Perspective*. *Biological Psychiatry*, 2013: p. 1-6.
72. Stein, M.A., M. WEISS, and L. Hlavaty, *ADHD Treatments, Sleep, and Sleep Problems: Complex Associations*. *Neurotherapeutics*, 2012. **9**(3): p. 509-517.
73. Christian, K., et al., *A polymorphism at the 3'-untranslated region of the CLOCK gene is associated with adult attention-deficit hyperactivity disorder*. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 2008. **147B**(3): p. 333-338.

74. Xu, X., et al., *Association study between a polymorphism at the 3'-untranslated region of CLOCK gene and attention deficit hyperactivity disorder*. Behavioral and Brain Functions, 2010. **6**(1): p. 48.
75. Kripke, D.F., et al., *Circadian polymorphisms associated with affective disorders*. J Circadian Rhythms, 2009. **7**: p. 2.
76. Bailer, U., et al., *No association of clock gene T3111C polymorphism and affective disorders*. Eur Neuropsychopharmacol, 2005. **15**(1): p. 51-5.
77. Desan, P.H., et al., *Genetic polymorphism at the CLOCK gene locus and major depression*. Am J Med Genet, 2000. **96**(3): p. 418-21.