



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA
"MANUEL VELASCO SUÁREZ"

ESTUDIO DE ASOCIACIÓN GENÉTICA ENTRE LA VARIANTE rs6311 DEL
RECEPTOR DE SEROTONINA 5-HT_{2A} Y EL DESEMPEÑO COGNITIVO DE
ADULTOS MAYORES EN POBLACIÓN MESTIZO-MEXICANA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A

SIMÓN CRUZ ÁVALOS OLMOS

DIRECTORA: M. en C. ELIZABETH RUÍZ SÁNCHEZ
ASESORA: Dra. RAQUEL RETANA UGALDE



CIUDAD DE MÉXICO, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS

A mis padres Simón Ávalos R. y Gregoria V. Olmos N. Por todo el apoyo, cariño, comprensión y paciencia que me han tenido durante todo este tiempo y a pesar de todo siempre han estado conmigo.

A mis hermanos Monse, Jorge y Meche, por todo el apoyo, paciencia y cariño que me han demostrado. Sé que contaré con ustedes en todo momento, le agradezco a la vida por tenerlos como hermanos, son los mejores.

A mi abuelita Guadalupe Reyes G. Por todo el apoyo, cariño, comprensión y por los consejos que me ha dado durante toda mi vida.

A la memoria de mi abuelo Armando Ávalos, mi tía Inés Olmos y mi hermana Carmelita Ávalos, que aunque ya no se encuentren con nosotros, siempre estuvieron apoyándome. Nunca los olvidaré.

A mis mejores amigas Daniela Nuñez y Julieta Corona, por estar conmigo en toda esta etapa, por sus consejos, sobre todo por la ayuda y todos los momentos divertidos que risas que compartimos juntos.

A mis amigos del laboratorio de Neurotoxicología Myr, Miriam, Migue y Pedro, por todos los momentos que compartimos, sin ustedes mi estancia en el laboratorio no hubiese sido la misma.

A mi familia por todo el apoyo que me han demostrado, son muchos y nunca acabaría de agradecerles todo el cariño que siempre me han demostrado.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la formación integral que me brindó durante los años que forme parte de ella, empezando desde el Colegio de Ciencias y Humanidades Plantel Azcapotzalco.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por brindarme la formación académica, amistades y profesores que ayudaron a dicha formación.

Al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez” por la oportunidad de realizar el servicio social y tesis.

A mi directora de tesis la M. en C. Elizabeth Ruíz Sánchez por todo el apoyo incondicional, el tiempo que dedico para la culminación de este trabajo, todo el conocimiento, cariño y comprensión que me proporciono durante todo el tiempo que fue mi directora.

A la Dra. Patricia Rojas Castañeda por permitirme realizar el servicio social en el laboratorio de Neurotoxicología, además de sus consejos y apoyo.

ÍNDICE

1.- RESUMEN.....	1
2.- INTRODUCCIÓN.....	2
3. MARCO TEÓRICO.....	4
3.1 COGNICIÓN EN ADULTOS MAYORES	4
3.1.1 <i>Factores genéticos en la cognición</i>	6
3.2 SEROTONINA	8
3.3 RECEPTOR DE SEROTONINA 5-HT _{2A}	12
3.4 VARIANTES DE UN SOLO NUCLEÓTIDO (SNV)	14
3.5 POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO	15
3.6 VARIANTES DEL RECEPTOR DE SEROTONINA 5-HT _{2A}	16
3.6.1 <i>Variante rs6314 del receptor de serotonina 5-HT_{2A}</i>	17
3.6.2 <i>Variante rs6313 del receptor de serotonina 5-HT_{2A}</i>	17
3.6.3 <i>Variante rs6311 del receptor de serotonina 5-HT_{2A}</i>	18
3.7 ESCALAS DE EVALUACIÓN COGNITIVA	19
3.7.1 <i>Clasificación general de atención</i>	22
3.7.2 <i>Clasificación general de cálculo</i>	23
3.7.3 <i>Generalidades de la Memoria de trabajo</i>	24
4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	25
5.- HIPÓTESIS	26
6.- OBJETIVO	26
6.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26

7.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
7.1 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	27
7.2 UNIVERSO DE ESTUDIO.....	27
7.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN	27
7.4. VARIABLES	28
7.5 ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES	28
7.6 TÉCNICAS	29
7.6.1 <i>Química sanguínea de seis elementos</i>	29
7.6.2 <i>Extracción de DNA por método salino</i>	30
7.6.3 <i>Reacción de secuenciación de DNA: método Sanger</i>	31
7.6.4 <i>High Resolution Melting (HRM)</i>	31
7.6.5 <i>Análisis bioinformático</i>	33
7.6.5.1 <i>Diseño de iniciadores</i>	33
7.6.5.2 <i>Genética de poblaciones</i>	34
7.7 DISEÑO ESTADÍSTICO	35
8.- RESULTADOS.....	37
8.1 PARTICIPANTES	37
8.2 EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO COGNITIVO POR GÉNERO	39
8.3 GENOTIPIFICACIÓN DE LA POBLACIÓN	41
8.4 EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO COGNITIVO POR GENOTIPO.....	42
8.5 EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO COGNITIVO EN EL MODELO GENÉTICO.....	43
8.6 ANÁLISIS DE RIESGO	45
9.- DISCUSIÓN.....	47

11.- PERSPECTIVAS	51
12.- REFERENCIAS	53
13.- ANEXOS	63
13.1- CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	63
13.2- ESCALA DEL MMSE	64

ABREVIATURAS

Ácido desoxirribonucleico	ADN
Ácido dietilaminolisérgico	LSD
Ácido ribonucleico	ARN
Ácido ribonucleico mensajero	ARNm
Alelo de menor frecuencia	MAF
Análisis de curvas de disociación de alta resolución	HRM
Apnea obstructiva del sueño	OSA
Capacidad funcional	CF
Colaboradores	Cols
Colegio Americano de Genética Médica	ACMG
Consejo Nacional de Población	CONAPO
Deterioro cognitivo	DC
Didesoxinucleotidos	ddNTP
Dopamina	DAT
Equilibrio de Hardy-Weinberg	EH-W
Estudio de asociación de gen candidato	CGAS
Estudio de asociación de genoma amplio	CWAS
Factor trófico	FT
Glucocorticoides	GR
Gen del receptor de serotonina 2A	5THR2A
Histidina	His
Imágenes de resonancia magnética funcional	fMRI
Instituto Nacional de Estadística y Geografía	INEGI
Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez	INNNMVS
Intervalo de confianza al 95%	IC _{95%}
Kilo bases	KB
Memoria de trabajo	MT
Mini Examen del Estado Mental	MMSE
Monoaminoxidasa	MAO
Norepinefrina	NET

Organización Mundial de la Salud	OMS
Polimorfismo de un solo nucleótido	SNP
Polimorfismo de un solo nucleótido codificantes	cSNP
Polimorfismo de un solo nucleótido estructurales	srSNP
Polimorfismo de un solo nucleótido reguladores	rSNP
Prueba de clasificación de tarjetas de Wisconsin	WCST
Razón de momios	RM
Reacción en cadena de la polimerasa	PCR
Serina	Ser
Serotonina	5-HT
Sistema Nervioso Central	SNC
Sociedad de Variación del Genoma Humano	HGVS
Tirosina	Tyr
Transportador de serotonina	SERT
Transportador vesicular de monoaminas	VMAT
Triptófano	Trp
5-ácido hidroxindolacético	5-HIA
Variantes de un solo nucleótido	SNV

1.- RESUMEN

Antecedentes: Durante el envejecimiento, las funciones cognitivas presentan un declive y mayor variabilidad individual, resultando difícil discernir entre un envejecimiento saludable o un deterioro patológico. El envejecimiento saludable y la cognición se encuentran asociados con factores ambientales y genéticos. Es por ello que, resulta importante identificar factores genéticos asociados a persona susceptible o resiliente al deterioro cognitivo con respecto a la edad y proporcionar un manejo oportuno. **Objetivo:** Evaluar la relación entre el desempeño cognitivo y la variante rs6311 en el gen del receptor de serotonina 2A en adultos mayores mestizo-mexicanos. **Resultados:** El análisis incluyó un modelo genético que agrupó a portadores del alelo "G" ("G/G+G/A") y se comparó con los homocigotos al alelo "A"(A/A). Por consiguiente, se observó una diferencia significativa en el puntaje de la subprueba "atención y cálculo" ($p=0.004$) entre los homocigotos al alelo "A" $3.67(\pm 1.22)$ y los portadores del alelo "G" $4.54(\pm 0.847)$. En los homocigotos al alelo "A" se identificó un RM= 8.575 ($IC_{95\%} 1.626- 45.205$) con $p=0.011$ después de ajustar por variables que influyen en el desempeño cognitivo como la edad, el género y los años de escolaridad. **Conclusión:** En el presente estudio se identificó una asociación entre la variante rs6311 y el desempeño cognitivo en la subprueba "atención y cálculo". El alelo A presentó un bajo desempeño cognitivo en comparación con los portadores del alelo "G". Nuestros hallazgos sugieren que el alelo "A" podría relacionarse con una menor expresión del gen *5HTR2A* y en consecuencia una menor unión de 5-HT al receptor $5-HT_{2A}$ afectando el desempeño cognitivo de adultos mayores mestizo-mexicanos.

2.- INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) proyecta que del 2015 al 2050 la población mundial de personas mayores de 60 años incrementará casi al doble. En México, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) informó que en el año 2010 los adultos mayores de 60 años representaban el 8.9% de la población mexicana. Por otro lado, el Consejo Nacional de Población (CONAPO), de acuerdo a las proyecciones realizadas en el año 2015, espera que el porcentaje de este grupo etario sea del 14.8% para el 2030. En este sentido, los factores de riesgo y enfermedades asociadas con el envejecimiento representan un problema de salud mundial debido al aumento en la expectativa de vida y a su efecto en la calidad de vida del adulto mayor.

Las alteraciones del desempeño cognitivo afectan las actividades de la vida cotidiana, se consideran un factor de riesgo para el deterioro cognitivo y su posterior desarrollo a demencia. Así, el estudio para identificar biomarcadores asociados a la función cognitiva es importante para identificar personas susceptibles a alteraciones cognitivas.

Durante el envejecimiento la unión entre la serotonina (5-HT) y el receptor 5-HT_{2A} se ha visto disminuida en diferentes regiones del cerebro principalmente en áreas corticales, núcleo accumbens, hipocampo e hipotálamo. Este receptor se ha relacionado con procesos cognitivos, rasgos de personalidad y en diferentes enfermedades como esquizofrenia, enfermedad de Alzheimer y depresión. Además, el 5-HT_{2A} es la principal diana farmacológica para los medicamentos

antipsicóticos por la alta afinidad que presenta por agonistas y antagonistas de la señalización de la serotonina.

Dentro del gen que codifica al receptor 5-HT_{2A} se encuentra la variante rs6311 (-1438A/G en región promotora) localizado en el cromosoma 13q14-q21. La variante rs6311 modula la actividad promotora del gen y se ha vinculado con un incremento en la expresión del gen *5HTR2A*. Así mismo, esta relación se ha asociado con el desempeño cognitivo.

Es por ello que, el presente trabajo se centra en evaluar la posible asociación entre el polimorfismo genético rs6311 presente en el gen que codifica al receptor de serotonina 5-HT_{2A} y el desempeño cognitivo de adultos mayores en población mestizo-mexicana.

Dentro de las diferentes escalas de evaluación cognitiva para determinar el desempeño cognitivo se utilizó el mini examen del estado mental, y sus subsecciones que evalúan diferentes funciones de la cognición: la atención y orientación, la memoria, el registro, el recuerdo, el cálculo, el lenguaje, el funcionamiento visual-perceptivo-espacial y el funcionamiento ejecutivo.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Cognición en adultos mayores

El envejecimiento es un proceso estocástico que se presenta después de alcanzar la madurez reproductiva y deriva de un incremento progresivo en el desorden celular^{1,2}. Durante esta etapa de la vida, las funciones cognitivas presentan un declive y una mayor variabilidad individual en estas capacidades. Así, discernir entre un envejecimiento saludable o un deterioro patológico es clínicamente difícil, debido a las diferentes variables relacionadas con la salud de los adultos mayores: factores genéticos, los entornos físicos y sociales (en particular las viviendas, vecindario y comunidades), y sus características personales: el sexo, la etnia y el nivel socioeconómico³.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define al envejecimiento saludable como el proceso de fomentar y mantener la capacidad funcional (CF) que permita el bienestar en la vejez⁴. Así, la CF es la facultad de una persona para realizar actividades cotidianas y tareas de movilidad necesarias para la vida independiente^{4,5}.

Durante el envejecimiento saludable se presentan cambios normales en la cognición, se ha observado disminución en el rendimiento de tareas cognitivas que requieren un procesamiento o transformación rápida de la información para la toma de decisiones, incluyendo la velocidad de procesamiento, memoria de trabajo y función cognitiva ejecutiva⁶.

En general, las habilidades cognitivas se pueden dividir en dominios

cognitivos específicos que incluyen atención, memoria, función cognitiva ejecutiva, lenguaje y habilidades visuo-espaciales⁶. Entre estos dominios cognitivos la memoria es la primera en ser afectada durante el envejecimiento. De esta manera el envejecimiento saludable y la cognición se encuentran asociados con factores nutricionales, médicos, socioeconómicos, de comportamiento, ambientales y genéticos. Dicho lo anterior, se han propuesto también factores de protección, el ejercicio y el entrenamiento cognitivo⁷.

Por otro lado, el deterioro cognitivo (DC) es la alteración de las facultades intelectuales previamente conservadas, entre las que destacan la orientación, la memoria reciente, el razonamiento, el cálculo, el lenguaje, la realización de tareas complejas, entre otras¹. El DC se considera un factor de riesgo para el desarrollo de demencia. En este sentido, un individuo con DC tiene 10 al 15% de probabilidad de desarrollar demencia en comparación con sujetos sanos (con una probabilidad del 1-2%)³. Las alteraciones cognitivas más reportadas en población geriátrica son las funciones ejecutivas, de memoria y atención. Este tipo de alteraciones, tiene una tasa de conversión a demencia del 17 y 34% en la población de adultos mayores^{1, 3}. Por ello, el desempeño cognitivo presenta un impacto importante en la calidad de vida de esta población¹.

La OMS ha definido a la calidad de vida en “la percepción que cada individuo tiene de su posición en la vida, en el contexto del sistema cultural y de valores en los que vive en relación con sus metas, expectativas, estándares y preocupaciones”⁸. Por otra parte, la evaluación de la calidad de vida se centra en la repercusión de la enfermedad o el estado de salud, el tratamiento y los cuidados

sanitarios del paciente¹. Igualmente, la calidad de vida en adultos mayores con DC depende de distintos factores: la edad, el género, el nivel de escolaridad, el estado civil, el entorno familiar, independencia económica, entre otros².

De esta forma, una prioridad del sistema de salud es mejorar la calidad de vida de los adultos mayores. En consecuencia, resulta importante la identificación de personas con susceptibilidad a las alteraciones en el desempeño cognitivo y proporcionar un manejo oportuno a esta población¹.

3.1.1 Factores genéticos en la cognición

Diferentes estudios se han centrado en determinar si los factores genéticos afectan la capacidad funcional general o funciones cognitivas específicas. Se ha encontrado un incremento lineal de la influencia genética con la edad desde 20% en la infancia, 40% en la juventud y hasta el 60% en adultos^{6,9}. Sin embargo, las relaciones entre heredabilidad, influencia ambiental y funciones cognitivas son complejas en el adulto mayor. Por ello, es necesario una mayor investigación en distintas poblaciones con medidas cognitivas consistentes y apropiadas para establecer la asociación del factor genético con el desempeño cognitivo en adultos mayores saludables⁹.

Para identificar la relación de los factores genéticos con el desempeño cognitivo en una población se emplean estudios de asociación genética. Dentro de estos se cuenta con los análisis en gemelos, genes candidatos (Candidate Gene Association Study, por sus siglas en inglés CGAS) o de genoma amplio (Genome Wide Association Study, por sus siglas en inglés GWAS)^{5,9}.

Los estudios de gemelos ayudan a estimar en que proporción la variabilidad de un fenotipo se debe a factores genéticos y ambientales. Así, estos permiten establecer la heredabilidad del desempeño cognitivo en una población determinada. Igualmente, la investigación en gemelos monocigóticos que comparten genes en común puede indicar si el ambiente influye en el rasgo evaluado⁹. Los CGAS seleccionan un gen que por su trascendencia funcional pueda estar asociado con algún fenotipo (Por ejemplo, desempeño cognitivo). Por otra parte, los GWAS exploran la relación entre diferentes variantes genéticas y los fenotipos cognitivos mediante el análisis de diversas variantes de un solo nucleótido (SNV por sus siglas en inglés) en todo el genoma⁵.

Debido al incremento en la expectativa de vida de la población, algunas investigaciones se han centrado en comprender las características asociadas a la susceptibilidad o resiliencia al deterioro cognitivo con respecto a la edad. En la actualidad, existen factores que explican la variación en el rendimiento cognitivo, entre ellos la edad, la escolaridad, los rasgos de personalidad y el componente genético. Dentro de los rasgos genéticos, el estudio de receptores de diferentes neurotransmisores se ha establecido en distintas poblaciones^{10, 11, 12, 13}

Un ejemplo de lo anterior son los estudios de neuroimagen que han mostrado que el patrón de unión del receptor 5-HT_{2A} está determinado genéticamente¹⁴, y tiene relación con rasgos específicos de personalidad^{15,16}. En este sentido, estudios de variaciones genéticas de este receptor se han asociado con rendimiento cognitivo en población caucásica y asiática^{17,18}. En conjunto, estos estudios han mostrado relación entre los factores conductuales y

neurobiológicos¹⁶. A pesar de la importancia de dichos estudios, en nuestra población no se han realizado estudios sobre la posible asociación entre variantes genéticas y cognición en adultos mayores.

3.2 Serotonina

La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) es una indoleamina simple que pertenece al grupo de las monoaminas biogénicas que incluyen a la epinefrina, norepinefrina (NET), dopamina (DAT) e histamina. La 5-HT posee dos funciones: 1) factor trófico (FT) y 2) neurotransmisor en el sistema nervioso central (SNC). La función de FT implica procesos de neurogénesis, maduración neuronal y liberación del factor S100b que da estabilidad del citoesqueleto. Por otro lado, su función de neurotransmisor implica regular diferentes funciones biológicas: el comportamiento sexual, la agresividad, el apetito, la actividad locomotora, el sueño, la secreción hormonal, la memoria y el aprendizaje^{19,20,21}.

Dentro del SNC el proceso de síntesis, almacenamiento y metabolismo del 5-HT se realiza en neuronas serotoninérgicas. Estas neuronas se localizan principalmente en los núcleos del rafe del tallo cerebral con proyecciones difusas a través del cerebro anterior y médula espinal^{20,21}.

La síntesis de 5-HT se realiza a partir de un aminoácido esencial obtenido mediante la dieta, el triptófano (Trp). El proceso inicia con la enzima triptófano hidroxilasa encargada de la hidrólisis del Trp en 5-hidroxitriptofano (intermediario). Por último, este intermediario es descarboxilado por la enzima triptófano descarboxilasa para formar la 5-HT^{20,21}.

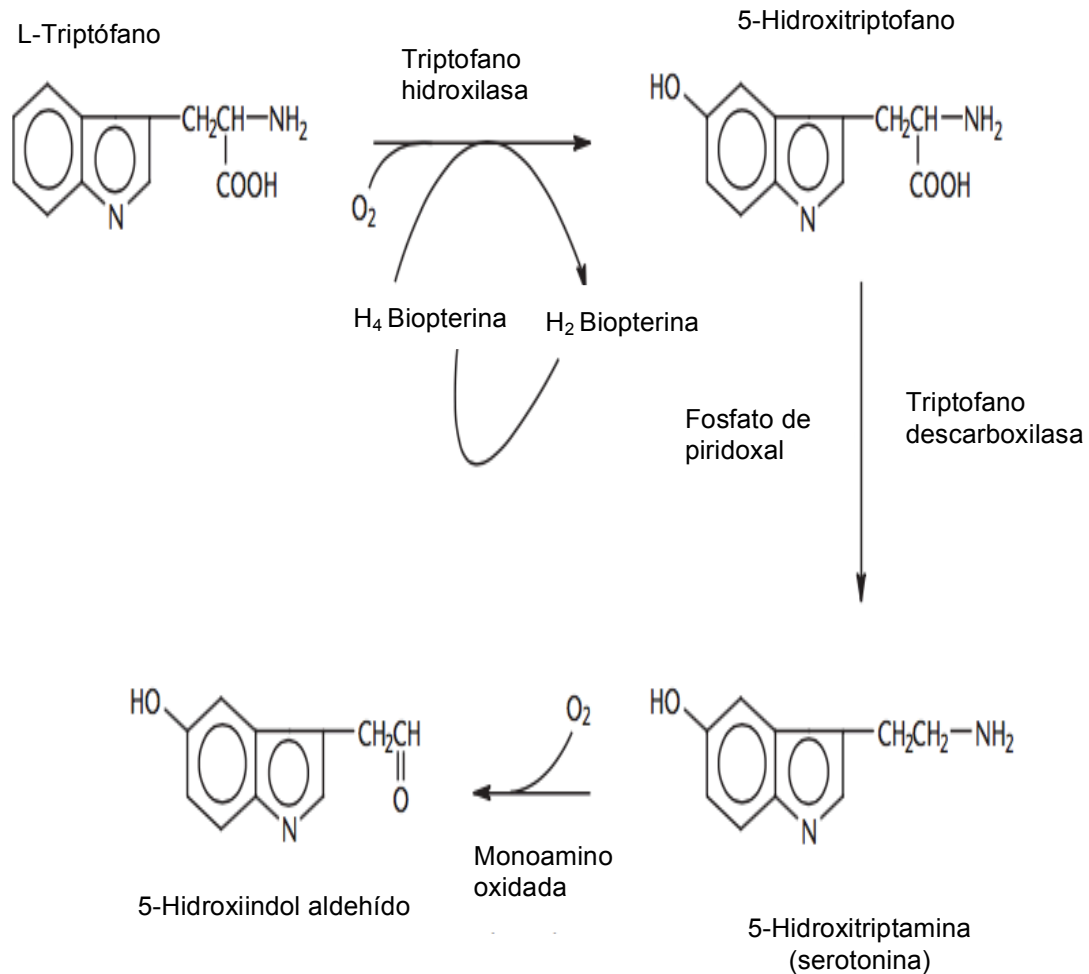


Figura 1. Ruta biosintética de serotonina a partir de L-Triptófano. Modificado de Azmitia E¹⁹. 2012

Este neurotransmisor es almacenado en las vesículas sinápticas por medio del transportador vesicular de monoaminas (VMAT). La liberación de 5-HT inicia por la entrada de Ca^{2+} hacia el interior de la vesícula sináptica y mediante un proceso de exocitosis se libera en la hendidura sináptica. De esta forma, la 5-HT puede interactuar con los diferentes receptores localizados en la membrana postsináptica, ser metabolizada por acción de la monoaminoxidasa (MAO) o recaptada por el transportador 5-HT (SERT)^{20,21}.

El metabolismo de la 5-HT esta mediado por las enzimas ubicuas MAO tipo A y B. Ambos tipos de MAO se encargan de degradar la 5-HT a 5 ácido hidroxindolacético (5-HIAA). La MAO tipo A se encuentra en el espacio sináptico y la MAO tipo B en el citoplasma de las neuronas presinápticas^{20,21}.

Por otro lado, existen dos mecanismos para el control y disponibilidad de la 5-HT en la hendidura sináptica, ya sea por la unión de 5-HT a su autoreceptor o por la recaptura en la membrana presináptica por el SERT, el cual se encarga de retirar la 5-HT de la hendidura sináptica y llevarla al interior del citoplasma de las neuronas presinápticas para evitar su degradación. La unión a su autoreceptor produce una retroalimentación negativa que disminuye la liberación adicional de 5-HT^{20,21}.

De igual forma, existen 14 tipos de receptores 5-HT que se dividen en siete familias, seis pertenecen a la superfamilia de receptores metabotrópicos (acoplados a proteína G) y uno pertenece a la familia de receptores ionotrópicos (cys-loop tipo canal iónico), cuadro 1^{19,20,22}.

Cuadro 1. Familia de receptores de serotonina y subtipos^{20,22,23}.

Familia de receptores	Subtipo de receptor	Tipo de receptor	Mecanismo
	5-HT _{1A}		
5-HT ₁	5-HT _{1B}		Acoplados a proteína G.
	5-HT _{1D}	Metabotrópico	Inhiben a la adenilato ciclasa
	5-HT _{1E}		(G _{ai})
	5-HT _{1F}		
5-HT ₂	5-HT _{2A}		Acoplados a proteína G.
	5-HT _{2B}	Metabotrópico	Activan a la fosfolipasa (G _{aq})
	5-HT _{2C}		
5-HT ₃		Ionotrópico	Canal iónico acoplado a ligando.
5-HT ₄	5-HT _{4A}	Metabotrópico	Acoplados a proteína G.
	5-HT _{4B}		Activan a la adenilato ciclasa (G _{as})
5-HT ₅	5-HT _{5A}	Metabotrópico	Acoplados a proteína G.
	5-HT _{5B}		Inhiben a la adenilato ciclasa (G _{ai})
5-HT ₆		Metabotrópico	Acoplados a proteína G. Activan a la adenilato ciclasa (G _{as})
5-HT ₇		Metabotrópico	Acoplados a proteína G. Activan a la adenilato ciclasa (G _{as})

La familia del receptor 5-HT₂ contiene a los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}, que se encuentran acoplados a proteína G, específicamente a la proteína del tipo Gq /11²². Esta familia de receptores 5-HT₂ (principalmente 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}), son dianas farmacológicas para el tratamiento de diferentes enfermedades como esquizofrenia, ansiedad, depresión y enfermedad de Parkinson²³.

Los receptores 5-HT₂ se expresan en diferentes sitios. Los receptores 5-HT_{2B} se encuentran ampliamente expresados en el hígado, el riñón, el corazón y el fondo del estómago. Su función fisiológica no se encuentra esclarecida del todo, aunque está implicado en la función cardíaca, la morfogénesis y la ansiedad²².

La actividad de los receptores 5-HT_{2C} es elevada en el SNC y fuera de este los niveles de actividad son bajos. Los receptores 5-HT_{2C} poseen interacciones complejas con mecanismos de transducción de señales, señalización dirigida por agonistas y agonismo por parte de algunos antipsicóticos^{22,23}.

3.3 Receptor de serotonina 5-HT_{2A}

Los receptores 5-HT_{2A} se encuentran distribuidos en los tejidos del intestino, sistema gastrointestinal, pulmonar, cardiovascular, en el SNC y periférico²². Así mismo, los receptores localizados en el SNC se expresan en el proencéfalo, áreas corticales, caudado, núcleo accumbens, bulbo olfativo y el hipocampo^{22,23,24}. La 5-HT posee afinidad baja por el receptor 5-HT_{2A} en comparación con otros receptores 5-HT. Además, los ligandos a este receptor exhiben patrones de actividad farmacológicos complejos. Estos ligandos van desde agonistas o antagonistas²².

El receptor 5-HT_{2A} tiene una alta afinidad por agonistas (ácido dietilaminolisérgico, LSD) o antagonistas (ketanserina). Por lo tanto, el nivel de afinidad y especificidad que posee el receptor 5-HT_{2A} permite ser una diana farmacológica para la mayoría de los medicamentos antipsicóticos²³.

La 5-HT es de suma importancia ya que se encuentra asociada en procesos sensoriales, motores y cognitivos^{10,18}. Existen cambios en el funcionamiento serotoninérgico que pueden ser endofenotipos encargados de mediar la influencia de algunos factores genéticos¹¹. Además, se ha observado que durante el envejecimiento la unión entre 5-HT y el receptor 5-HT_{2A} está disminuida en diferentes regiones del cerebro principalmente en áreas corticales, núcleo accumbens, hipocampo e hipotálamo¹². El receptor 5-HT_{2A} es uno de los más estudiados en procesos cognitivos como memoria y aprendizaje, puesto que los receptores 5-HT_{2A} se encuentran ubicados en la corteza prefrontal y en el hipocampo^{10,18,25}. Este receptor se ha implicado en el proceso cognitivo y la función cognitiva patológica. La manipulación farmacológica del receptor 5-HT_{2A} aunado con la administración de triptófano en ratas ha demostrado influir en la memoria dependiente del hipocampo¹². Utilizando el mismo modelo animal, Passetti²⁶ *et al.* (2003) observaron que el receptor 5-HT_{2A} regula la ejecución de respuestas prediseñadas relacionadas con la corteza prefrontal²⁶.

Por otro lado, estudios en humanos han mostrado que la disminución de Trp (aminoácido utilizado para la síntesis de 5-HT) altera la consolidación de la memoria declarativa¹². Se ha visto que la administración de agonistas del receptor 5-HT_{2A} afectan de manera negativa pruebas de rendimiento continuo que se

determina principalmente por la función prefrontal²⁷. Umbricht²⁷ *et al.* (2003) demostraron que algunos agonistas del receptor 5-HT_{2A} afectan la función cognitiva prefrontal similar a lo observado en la esquizofrenia²⁷.

Por ello, algunas investigaciones se basan en el estudio de alteraciones genéticas del receptor 5-HT_{2A}, debido a la implicación de este receptor en enfermedades neurodegenerativas o psiquiátricas. Algunas variantes genéticas en el gen *5HTR2A* han demostrado una posible asociación con los síntomas de algunas enfermedades neurológicas (Alzheimer) o psiquiátricas (esquizofrenia)²⁰.

3.4 Variantes de un solo nucleótido (SNV)

La Sociedad de Variación del Genoma Humano (HGVS por sus siglas en inglés) propuso (noviembre del 2015) cambios en la nomenclatura de las variantes de secuencia. Esto surge ya que la versión anterior poseía algunos errores e inconsistencias que no cubrían a los diferentes tipos de variantes de secuencia. Uno de los cambios que sugieren es evitar el uso del término "polimorfismo" debido a que este término ha asumido significados imprecisos. Es decir, el polimorfismo tiende a ser confuso debido a que en algunas áreas se refiere a una variación de secuencia que no causa enfermedad. Mientras que en otras áreas se refiere a una variante que se encuentra en una frecuencia del 1% o más en una población. Por otra parte, sugieren que el término "variante" tiene un valor positivo en las discusiones entre los médicos y los pacientes al atenuar la implicación de los cambios detectados. Por lo tanto, siguiendo las recomendaciones de la HGVS y el Colegio Americano de Genética Médica (ACMG por sus siglas en inglés), los términos recomendados para sustituir al término "polimorfismo" son: "variante",

"alteración" o "cambio"²⁸. A pesar de esto, en el presente trabajo se dedicará una sección para describir los diferentes tipos de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP por sus siglas en inglés), por continuar empleándose en diferentes áreas de investigación. En el presente trabajo se usará de forma indistinta el termino polimorfismo y variante genética.

3.5 Polimorfismos de un solo nucleótido

Los SNP representan las variantes genéticas más frecuentes en el genoma humano y se localizan en cualquier parte de la estructura del genoma^{29,30}. Se caracterizan por la variación de un solo nucleótido en una posición concreta del genoma denominada *locus*³¹. Además, por su densidad y distribución uniforme en el genoma humano, son propuestos como biomarcadores genéticos³⁰.

De acuerdo a su funcionalidad y localización en el gen, los SNP se dividen en tres: SNP reguladores (rSNP), SNP ARN estructurales (srSNP) y SNP codificantes (cSNP). Los rSNP se encuentran en los sitios promotores de genes que codifican proteínas y afectan a los niveles de expresión génica. Los srSNP se encuentran en las secuencias que codifican ARNm primarios y secundarios incluyendo regiones no traducidas (5'UTR y 3'UTR), y regiones intrónicas. Los cSNP se encuentran en los exones y se subdividen en sinónimos (si el cambio de nucleótido no cambia un aminoácido) y no sinónimos (si el cambio de nucleótido cambia un aminoácido)³². La descripción estadística de un polimorfismo estima la prevalencia en la población de cada alelo y de cada genotipo posible, es decir, la estimación de las frecuencias alélicas y genotípicas, respectivamente³¹.

3.6 Variantes del receptor de serotonina 5-HT_{2A}

El gen que codifica el receptor de serotonina 5-HT_{2A} se encuentra localizado en el cromosoma 13q14-q21, consiste en 3 exones y 2 intrones a lo largo de 62Kb^{18,32}. Dentro de este gen se localizan tres variantes de un solo nucleótido (SNV), que han sido los más estudiados e implicados en enfermedades neurológicas y psiquiátricas. Estos polimorfismos son: rs6313, rs6314 y rs6311.

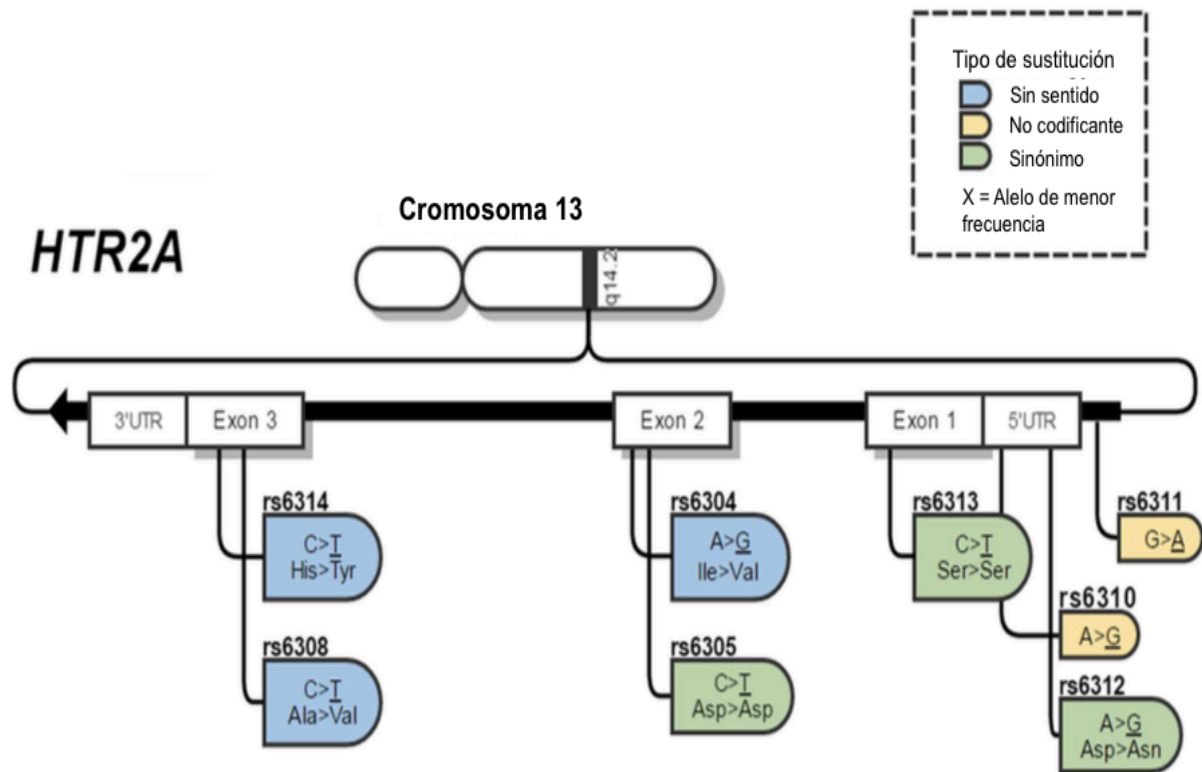


Figura 2. SNV del gen *HTR2A* presentes en el cromosoma 13. Modificado de Pérez-Rubio³³ 2017

3.6.1 Variante rs6314 del receptor de serotonina 5-HT_{2A}

El rs6314 es una sustitución C por T en exón 3. Este SNV no sinónimo da por resultado un cambio de histidina por tirosina en el aa 452. El alelo Tyr (alelo T) se ha relacionado con una menor respuesta del receptor 5-HT_{2A} tras el estímulo de la 5-HT¹². Esta variante genética se ha vinculado con la señalización de calcio y la función de las fosfolipasas C y D, el volumen y la actividad del hipocampo humano, la memoria episódica, la memoria de trabajo, el procesamiento de lo novedoso, la respuesta al tratamiento con clozapina, y al diagnóstico de esquizofrenia^{12,34,35}. Wagner¹² *et al.* (2008) en población caucásica evaluaron el efecto de la variante His452Tyr y la consolidación de la memoria episódica. Sus resultados muestran que el alelo de Tyr se asocia a una deficiente consolidación de la memoria a largo plazo¹². Por otro lado, Björn³⁴ *et al.* (2011) analizaron el procesamiento de estímulos nuevos del hipocampo utilizando imágenes de resonancia magnética funcional (por sus siglas en inglés fMRI) y esta variante en otra población caucásica. En ese estudio se demostró que los portadores de Tyr (Alelo T) presentan un menor rendimiento en tareas de memoria dependientes del hipocampo en comparación con los homocigotos a His (Alelo C), sugiriendo que el polimorfismo podría afectar la codificación dependiente de estímulos novedosos del hipocampo³⁴.

3.6.2 Variante rs6313 del receptor de serotonina 5-HT_{2A}

El SNV rs6313 (T102C) (sustitución sinónima de T por C localizada en el exón 1, involucrado en la codificación del aminoácido 34 de serina), es una variante que no altera la secuencia del aminoácido, es decir, el aminoácido codificado por los

alelos T y C es Ser^{13,36,37}. Además, se ha reportado en población sana que las personas homocigotas C/C presentan niveles bajos de ácido ribonucleico mensajero (RNAm) y proteínas del receptor 5HT_{2A} con respecto al genotipo T/T^{13,36,37}. Hsien-Yuan¹³ *et al.* (2008) evaluaron la relación entre los errores perseverantes en la prueba de clasificación de tarjetas de Wisconsin (por sus siglas en inglés WCST) y el polimorfismo rs6313 en 216 voluntarios chinos sanos. En ese estudio se observó que los heterocigotos T/C tuvieron un mayor número de errores perseverantes en el WCST con respecto a los homocigotos T/T y C/C¹³. Por otro lado, Poleskaya³⁷ *et al.* (2002) analizaron la expresión de los alelos C y T en 35 controles postmortem y 39 pacientes esquizofrénicos. Sus resultados sugieren que en pacientes esquizofrénicos (libres de neurolepticos) la expresión del alelo "C" es menor en comparación con el alelo "T" en la corteza temporal. Por ello, los autores sugieren que la presencia del alelo "C" predispone a una expresión baja de 5-HT_{2A}, que es factor de riesgo para la esquizofrenia (en combinación con otros factores)³⁷.

3.6.3 Variante rs6311 del receptor de serotonina 5-HT_{2A}

La variante genética rs6311 (-1438A/G) es una sustitución de A por G que se localiza en la región promotora del gen *5HTR2A* y se sugiere que afecta la expresión génica y los niveles de proteína^{10,11,38}. El estudio de Parsons³⁸ *et al.* (2004) en líneas celulares asoció al genotipo A/A con una mayor expresión del gen *5HTR2A*³⁸. Falkenberg³⁹ *et al.* (2011) plantean que la SNV rs6311 de 5-HT_{2A} (rs6311) modula factores de transcripción en sitios específicos del promotor, estos sitios de unión son: E47, receptor de glucocorticoides (GR), y la unión de Sp1³⁹.

Fiocco¹⁰ *et al.* (2007) observaron en población Canadiense que los portadores del alelo G tienen una mayor tendencia a reportar sintomatología depresiva, baja autoestima, y mayores rasgos neuróticos comparados con los portadores del alelo A. Además, encontraron que el genotipo A/A mostró un mejor desempeño en tareas de memoria declarativa y atención selectiva que el genotipo G/G y G/A¹⁰. En mujeres anoréxicas, Rybakowski⁴⁰ *et al.* (2006) encontraron que los homocigotos A/A presentaron menor dependencia a la recompensa que el genotipo G/G y menor prevención al daño que el grupo A/G. Esto indica que el alelo A presenta riesgo en pacientes con anorexia nerviosa, de manera específica en aquellos con rasgos de personalidad, no típicos de la anorexia nerviosa⁴⁰. De igual forma, se han realizado otros estudios de este polimorfismo con diferentes enfermedades neurodegenerativas y psiquiátricas¹⁸. Dentro de estas investigaciones se ha encontrado asociación de esta variante con la dependencia de alcohol y drogas³², trastornos del sueño como la apnea obstructiva del sueño (OSA), bruxismo del sueño y problemas psicológicos que acompañan a la alteración del sueño⁴¹ y en el trastorno mayor depresivo⁴².

El estudio de la relación entre las variantes genéticas y la función cognitiva requiere pruebas estandarizadas y sensibles, siendo el mini-examen del estado mental la utilizada en este trabajo de investigación.

3.7 Escalas de evaluación cognitiva

El Mini-Examen del Estado Mental (MMSE por sus siglas en inglés) es una prueba de tamizaje utilizada para evaluar la función cognitiva en adultos mayores, personas hospitalizadas, entre otros^{43,44}. Esta se establece como "mini" debido a

que se concreta a aspectos cognitivos de las funciones mentales, excluyendo estado de ánimo, alteraciones mentales y el pensamiento⁴³. Por otro lado, se encuentra organizada en subsecciones para evaluar diferentes dominios cognitivos: la atención y orientación, la memoria, el registro, el recuerdo, el cálculo, el lenguaje, el funcionamiento visual-perceptivo-espacial y el funcionamiento ejecutivo^{44,45}.

El MMSE se aplica en aproximadamente siete minutos en personas con demencia y alrededor de cinco minutos en personas con cognición normal^{43,44,45}. Esta prueba consiste en 11 elementos, divididos en dos secciones, con una puntuación máxima de 30. La primera sección se enfoca en respuestas vocales y abarca los dominios cognitivos de la orientación, la memoria y la atención, su puntaje máximo es 21. La segunda parte evalúa la capacidad para nombrar, seguir órdenes verbales y escritas, escribir una oración de forma espontánea y copiar un polígono complejo. El puntaje máximo para estas otras pruebas es de 9^{43,44}. En general, el MMSE utiliza el punto de corte de 24 puntos. No obstante, se han sugerido otros puntos de corte que varían de acuerdo al autor citado, el tipo de estudio o la población de estudio^{44,45}.

Creavin⁴⁴ *et al.* (2016) realizaron un estudio comparando la precisión de dos puntos de corte para el MMSE, uno a 24 y el segundo a 25. La precisión del punto de corte a 25 fue de 0.87 en sensibilidad y 0.82 en especificidad. Sin embargo, la precisión del MMSE con punto de corte 24 fue de 0.85 en sensibilidad y 0.90 en especificidad. Es decir, de un 100% se logra identificar al 85% de las personas con algún trastorno cognitivo mientras que el 15% restante corresponde a falsos

positivos⁴⁴.

De este modo, existen factores como la edad, el nivel de educación, el género, y el estatus socio-económico que pueden afectar al MMSE ocasionando falsos positivos. En primer lugar, se ha visto que los puntajes del MMSE tienden a disminuir con la edad, especialmente después de los 65 años. Por el contrario, se ha observado que un mayor nivel educativo aumenta los puntajes del MMSE. Este es un factor a considerar ya que la educación introduce un sesgo que resulta en un diagnóstico falso positivo de demencia en sujetos con nivel educativo bajo. Aunque un nivel de educación alto puede enmascarar un deterioro cognitivo leve y dar como resultado un diagnóstico falso negativo. El género parece no tener diferencias significativas en la puntuación del MMSE entre hombres y mujeres⁴⁶. Sin embargo, los resultados obtenidos por Jones⁴⁷ *et al.*(2002) demostraron que los hombres tendían a cometer más errores en la ortografía y otras tareas del lenguaje, mientras que las mujeres tenían más probabilidades de fallar en las restas en serie⁴⁷. Por último, se ha observado que las clases socio-económico más bajas tienen una puntuación menor en el MMSE. Esto puede deberse, en parte, a una educación deficiente y, por ende, a este resultado. Otras posibles explicaciones podrían ser las limitaciones cognitivas del desarrollo que predisponen a un menor logro socioeconómico, o viceversa, un menor estatus socioeconómico asociado con un mayor riesgo de desarrollar demencia⁴⁶.

3.7.1 Clasificación general de atención

De manera específica, el proceso de atención aún no se ha comprendido por completo, por ello es difícil definir y clasificar en un solo contexto⁴⁸. Sin embargo, basándonos en lo propuesto por Ríos y Periañez⁴⁹ (2011) la definen como la habilidad mental de generar y mantener un estado de activación que permita un adecuado procesamiento de la información. Es decir, permite seleccionar información de manera específica entre múltiples fuentes disponibles. Esto incluye: la estimulación interna y externa, las memorias, los pensamientos e incluso las acciones motoras. Dicho lo anterior, se debe considerar que forma parte de un sistema complejo de subprocessos especializados que proporcionan precisión, velocidad y continuidad a la conducta⁴⁹.

Por otro lado, para la clasificación se han propuesto distintos modelos, sin embargo, el más utilizado a nivel clínico es el propuesto por Sohberg⁴⁸ y Mateer⁴⁸ (1987 y 1989). En este modelo se describen con facilidad los diversos fenómenos involucrados en los procesos atencionales. La capacidad atencional es jerárquica y cada nivel requiere el correcto funcionamiento del nivel anterior. El modelo propone seis componentes, descritos en el cuadro 2^{48,49}

Cuadro 2. Clasificación de la atención^{48,49}

Orientación	Es la conciencia de sí mismo con relación a sus alrededores. Requiere la integración de la atención, percepción y memoria. Permite establecer el nivel de conciencia y estado general de activación.
Atención focal	Habilidad para responder específicamente a estímulos visuales, auditivos o táctiles. La persona debe atender a una sola fuente de información e ignorar todos los demás estímulos.
Atención sostenida	Habilidad para mantener una respuesta conductual consistente durante una actividad continua y repetitiva. Se divide en: 1) vigilancia cuando la tarea es de detección y de concentración cuando se refiere a otras tareas cognitivas y 2) noción de control mental o memoria operativa, en tareas que implican el mantenimiento y manipulación de información de forma activa en la mente.
Atención selectiva	Capacidad para elegir los estímulos relevantes para una tarea, inhibiendo la atención a estímulos irrelevantes. Los pacientes con alteraciones en este nivel sufren numerosas distracciones, ya sea por estimulaciones externas o internas.
Atención alternada	Capacidad que cambiar el foco de atención entre tareas que implican requerimientos cognitivos diferentes, controlando que información es procesada en cada momento. Las alteraciones de este nivel impiden al paciente cambiar rápidamente y de forma fluida entre tareas.
Atención dividida	Capacidad para atender a dos cosas al mismo tiempo, es decir, realizar la selección de más de una información a la vez o de más de un proceso o esquema de acción simultáneamente. Es el proceso que permite distribuir los recursos atencionales a diferentes tareas o requisitos de una misma tarea. Puede requerir cambio rápido entre tareas o la ejecución de forma automática de alguna de ellas

3.7.2 Clasificación general de cálculo

El sistema de procesamiento de números propuesto por McCloskey⁵⁰ *et al.* (1985) se encuentra dividido en subsistemas independientes de comprensión y producción de números. Cada subsistema establece una distinción entre componentes para procesar números arábigos (números en forma de dígitos) y números verbales (números en forma de palabras). Los componentes para la

comprensión de los números arábigos y verbales convierten entradas numéricas en representaciones internas para su uso en el procesamiento cognitivo posterior (ejemplo, realizar cálculos). Así, las representaciones internas de los números especifican de forma abstracta las cantidades básicas en un número y la potencia de diez asociada a cada una (por ejemplo, cinco decenas y siete unidades para el número 57). Por su parte, el cálculo requiere de la comprensión y producción de números, es decir, varios procesos específicos de cálculo. De manera específica, McCloskey plantea tres mecanismos en su modelo⁵⁰:

- La comprensión de los signos de operación (ejemplo, +) o palabras (ejemplo, más)
- La recuperación de hechos aritméticos (ejemplo, $6 \times 7 = 42$)
- La ejecución de procedimientos de cálculo (ejemplo, en la realización de la multiplicación de varios dígitos, se comienza en la columna de la derecha, y así sucesivamente).

3.7.3 Generalidades de la Memoria de trabajo

La memoria de trabajo (MT) se define como un sistema que mantiene y manipula la información de manera temporal e interviene en procesos cognitivos: la comprensión del lenguaje, la lectura y en diversas formas de razonamiento. Además, permite retener de manera temporal información para la resolución de algún problema u operación mental. De igual forma, este tipo de memoria permite realizar objetivos inmediatos y a corto plazo. De hecho, se sabe la corteza prefrontal es esencial para la MT. De igual manera, se puede dividir a la MT en verbal o no verbal. Se sabe que la corteza prefrontal dorsolateral izquierda está

relacionada con las pruebas verbales y la corteza prefrontal dorsolateral derecha se relaciona con las pruebas viso-espaciales⁴⁸. La memoria de trabajo apoya el aprendizaje y el desempeño en las matemáticas. La medida y la forma en la que los distintos componentes de la MT son usados en el procesamiento matemático varían con la edad⁵¹.

4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, alrededor del 10% de la población son adultos mayores, y se calcula que esta incremente en los próximos años, presentando un aumento en las enfermedades asociadas con el envejecimiento. Entre ellas, las alteraciones del desempeño cognitivo que afectan la calidad de vida y se consideran un factor de riesgo para el desarrollo de deterioro cognitivo y posteriormente demencia. Es importante mencionar, que el rendimiento cognitivo en el envejecimiento se ha relacionado con factores ambientales y genéticos. De esta manera, el estudio de variantes genéticas asociados con el desempeño cognitivo en adultos mayores en población mestizo-mexicana es importante para identificar personas susceptibles y mejorar así la calidad de vida de esta población. De igual forma, estos estudios pueden contribuir a identificar posibles mecanismos patológicos y blancos terapéuticos.

5.- HIPÓTESIS

En nuestra población existen insuficientes investigaciones enfocadas en la posible asociación entre esta variante genética y la cognición en adultos mayores. Se han realizado diversos estudios del polimorfismo rs6311 y el receptor de serotonina 5-HT_{2A} con diversos trastornos o enfermedades neurológicas. Sin embargo, a nivel nacional no se han realizado investigaciones sobre la variante rs6311 y la función cognitiva en población adulta mayor. Por lo anterior, la hipótesis de trabajo se centra en la posible asociación de la variante 6311 del gen del receptor de serotonina 5-HT_{2A} y el desempeño cognitivo de adultos mayores en población mestizo-mexicana.

6.- OBJETIVO

Evaluar la relación entre el desempeño cognitivo y la variante rs6311 del receptor 5HT_{2A} de serotonina en adultos mayores mestizo-mexicanos, mediante un estudio de asociación genética.

6.1 Objetivos específicos

- Realizar genotipificación de la SNV rs6311 mediante análisis de HRM de una muestra de adultos mayores mestizo-mexicanos.
- Determinar la frecuencia alélica y genotípicas de la variante rs6311.
- Evaluar la posible asociación entre la SNVrs6311 y el desempeño cognitivo.

7.- MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Diseño Experimental

Estudio casos y controles, observacional, transversal.

7.2 Universo de estudio

50 mujeres y 50 hombres mayores de 60 años de edad mestizo mexicanos en población abierta de diferentes centros culturales del INAPAM en la Ciudad de México, que realizaron cuestionario sociodemográfico y auto reporte de enfermedades crónico degenerativas.

7.3 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Inclusión

- Hombres y mujeres mayores de 60 años de edad
- Mestizos mexicanos según criterios de Gamboa⁵²
- Firma del consentimiento informado

Exclusión

- Analfabetas
- Con algún diagnóstico neurodegenerativo o trastorno psiquiátrico
- Adultos mayores de 60 años de edad con un puntaje menor a 24 en el MMSE, que pueda indicar un posible deterioro cognitivo
- Enfermedades crónico-degenerativas no controladas

Eliminación

- Decidan abandonar el estudio
- Información incompleta

- Material genético degradado

7.4. Variables

Variable independiente

- Sexo
- Genotipo del polimorfismo rs6311
- Nivel de escolaridad

Variable dependiente

- Desempeño cognitivo.

7.5 Aspectos éticos y legales

Esta investigación se apega a las normas éticas, al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación⁵³ y a la Declaración de Helsinki, 64^a Asamblea General, octubre 2013⁵⁴. Toda la información de los participantes se mantendrá confidencial. Además, los participantes firmaron un consentimiento informado (Anexo 1) para autorizar su inclusión en el estudio. Esta tesis forma parte del proyecto con número “100/11” aprobado por el Comité Científico y de Bioética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez” (INNNMVS) y realizado en el laboratorio de Neurotoxicología del INNNMVS.

Operacionalización de variables

Variables	Definición	Nivel de medición	Categorías
Desempeño Cognitivo	Puntaje de prueba que evalúa procesos cognitivos como la orientación, la memoria reciente, el razonamiento, el cálculo, el lenguaje, la realización de tareas complejas, entre otras.	Cuantitativa continua	MMSE
Genotipo del polimorfismo rs6311	Combinación de alelos heredados de un gen en particular, cuya expresión contribuye a los rasgos observables del individuo, es decir, al fenotipo. La transición de A a G se da en la posición 1438 en región promotora del receptor 5-HT _{2A} .	Cualitativa nominal	A/A A/G G/G
Sexo	Diferencias y características biológicas, anatómicas, fisiológicas y cromosómicas de los seres humanos.	Cualitativa nominal	Masculino o femenino
Escolaridad	Período de tiempo en el que una persona asiste a la escuela para estudiar y aprender, especialmente el tiempo que dura la enseñanza obligatoria.	Cualitativa ordinal	Último grado de estudio

7.6 Técnicas

7.6.1 Química sanguínea de seis elementos

A partir de muestras de sangre periférica que se extrajeron en tubo BD vacutainer SSTTM, se obtuvo 1 mL de suero para ser analizado por un laboratorio de referencia que proporcione los resultados de química sanguínea de cinco elementos⁵⁵: Glucosa (64-107mg/dL), Urea (10-40mg/mL), Creatinina (hombres: 0.7-1.3mg/dL, mujeres: 0.6-1.1mg/dL), triglicéridos (40-170mg/mL), colesterol (150-220mg/mL).

7.6.2 Extracción de DNA por método salino

Los métodos que permiten la extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN) se basan en lograr la disrupción de las células, una desnaturalización de complejos de nucleoproteínas, la inactivación de enzimas (nucleasas), la eliminación de contaminantes presentes en la muestra (los biológicos y los químicos) y en la precipitación de ADN⁵⁶. La técnica de extracción de ADN llamada método salino (salting-out), se fundamenta en el cambio de solubilidad de las proteínas cuando se encuentran en un medio salino y la concentración es modificada⁵⁷.

La extracción del ADN se realizó por medio del método salino a partir de muestras de sangre periférica en tubo BD vacutainer ACD solución b de 6 mL, las muestras se centrifugaron para la obtención y extracción de leucocitos. Se adicionó solución de lisis de glóbulos rojos (NH_4Cl 0.155 M, KHCO_3 10 mM y EDTA 0.01 mM) y posteriormente solución TTS (Tris 10mM, Tritón 1%, Sacarosa 0.32 M) para la ruptura de la membrana celular de los glóbulos blancos. La ruptura del núcleo de las células se realizó adicionando SDS 10%. La precipitación de proteínas se logró agregando NaCl saturado. La solución resultante contiene ADN que en presencia de disolventes como etanol (70%-80%) logra que los ácidos nucleicos precipiten^{56,58}. Finalmente, el material genético fue solubilizado en solución amortiguadora TE (Tris/EDTA, Tris10 mM y EDTA 1 mM)^{56,57}. Esta solución TE se utiliza para el almacenamiento del ADN y evita su degradación por nucleasas, pH inadecuado, metales pesados y oxidación por radicales libres^{56,58}.

7.6.3 Reacción de secuenciación de DNA: método Sanger

La secuenciación de ADN es el proceso que determina el orden de bases de los nucleótidos (As, Ts, Cs y Gs) en un fragmento de ADN. El método de Sanger se basa en el uso de una ADN polimerasa y didesoxinucleótidos (ddNTP) para sintetizar cadenas de ADN con una terminación específica. Estos ddNTP se incorporan a la síntesis de ADN pero no permiten la formación del enlace fosfodiéster con el siguiente nucleótido, detienen la síntesis y genera los diferentes fragmentos⁵⁹. Esta técnica de secuenciación se utilizó con el reactivo “big dye” (Applied Biosynthesis; Waltham, Massachusetts, USA, número de catálogo: 4337457) siguiendo las instrucciones del fabricante. La secuenciación del ADN sirvió como estándar de oro para estandarizar otra técnica de genotipificación (descrita abajo) y para contar con controles de los tres genotipos presentes en la variante estudiada.

7.6.4 High Resolution Melting (HRM)

El HRM es una herramienta eficiente para la genotipificación, identificación y discriminación de las variantes genéticas^{60,61}. Esta técnica se realizó mediante el uso de ADN, instrumentos de alta calidad y un software de análisis. El HRM se basa en la caracterización de los productos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de acuerdo al comportamiento de disociación de segmentos de ADN^{60,61,62}. El análisis de las curvas de disociación se realizó post PCR con el equipo de PCR en tiempo real Rotor Gene (Corbett).

El análisis de HRM implica la amplificación del segmento de interés (plantilla) en presencia de un marcador de saturación fluorescente para PCR⁶¹. Las principales ventajas de esta técnica son su bajo costo, facilidad de uso, una alta sensibilidad y especificidad⁵⁹. Esta técnica de genotipificación se utilizó empleando el reactivo “Luminaris Color HRM Master Mix (2x)” (Thermo Scientific; Waltham, Massachusetts, USA, número de catalogo: #K1031BID), siguiendo las instrucciones del fabricante.

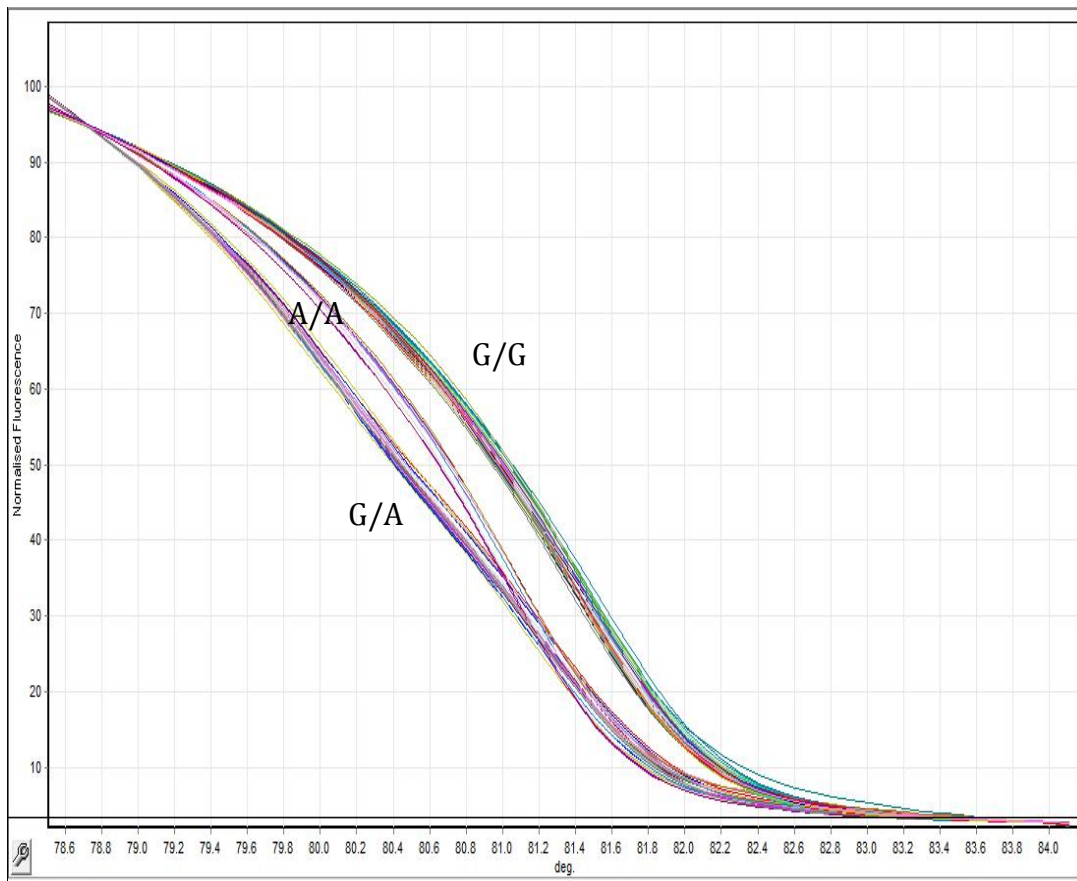


Figura 3. Ejemplo de curva de fusión de un análisis de HRM para la genotipificación de la variante rs6311.

7.6.5 Análisis bioinformático

7.6.5.1 Diseño de iniciadores

El diseño de oligonucleótidos o iniciadores para amplificación de ADN por PCR, se realizó mediante el uso de software y bases de datos de dominio público como: Ensembl, Primer3, The DINAMelt web server (Two-state Melting) y NCBI BLAST. Actualmente, se cuenta con diferentes tipos de programas y software que permiten realizar el diseño de iniciadores de manera eficaz. Sin embargo, es importante estandarizar la amplificación de estos iniciadores de acuerdo a las condiciones de cada laboratorio.

- Ensembl es un software del genoma, con sede en Instituto Europeo de Bioinformática del Laboratorio Europeo de Biología Molecular (EMBL-EBI). La finalidad de Ensembl es apoyar la investigación genómica comparativa, evolución, variación de secuencias y regulación transcripcional en genomas de vertebrados⁶³.
- Primer3 forma parte de los servicios prestados por ELIXIR - Infraestructura de investigación europea para información biológica. Primer3 crea modelos termodinámicos precisos para el diseño de iniciadores, con la finalidad de predecir la temperatura de hibridación y reducir la probabilidad de que los iniciadores formen horquillas o dímeros⁶⁴.
- The DINAMelt web es un servidor web, creado por Michael Zuker y Nick Markham organizado por el Instituto del ARN de la Facultad de Artes y Ciencias en la Universidad Estatal de Nueva York en Albany. Permite observar los posibles plegamientos de ARN y ADN. Este servidor posee una aplicación llamada Two-state Melting, que simula la temperatura de hibridación, y gráficos como:

Calorimetría de titulación isotérmica (ITC) y Van't Hoff⁶⁵.

- El programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) es desarrollado por los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos, puede usarse desde el servidor del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI). BLAST permite encontrar regiones con similitud entre secuencias, esto se realiza comparando secuencias de nucleótidos o proteínas. Además, calcula la significancia estadística de las coincidencias, y las posibles relaciones funcionales y evolutivas entre secuencias⁶⁶.

En el diseño de oligonucleótidos se utilizaron los cuatro programas anteriormente mencionados para una correcta genotipificación.

7.6.5.2 Genética de poblaciones

Los estudios de asociación ayudan a la identificación de genes de susceptibilidad, por ello, tienen como principal objetivo encontrar un marcador alélico sobre-representado en una muestra de pacientes en relación con una muestra control (casos y controles)⁶⁷. La determinación de la asociación del marcador con la enfermedad se realiza mediante la estimación y comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas^{31,67}. La estimación de las frecuencias genotípicas se realiza calculando la proporción de individuos por cada genotipo de estudio. Por otro lado, la estimación de las frecuencias alélicas se realiza duplicando la muestra, es decir, se toma al cromosoma como una unidad de observación (un individuo aporta 2 cromosomas) obteniendo la proporción de cada alelo³¹.

Para poder realizar el análisis de asociación, en primera instancia se debe verificar que se cumpla con el equilibrio de Hardy-Weinberg (EH-W) en la muestra

de controles. El EH-W determina que las frecuencias genotípicas observadas en una población corresponden a las frecuencias alélicas. Además, se debe considerar que la transmisión de los alelos (de progenitores a descendientes) es de forma independiente y no existe alguna nueva mutación^{31,67}.

Cuando no es posible cumplir con el EH-W, en primera instancia se debe verificar la validez del método de genotipificación utilizado, antes de verificar el efecto fundador, migración o que exista una selección de un alelo³¹. Por otro lado, cuando la muestra de los casos no cumple con el EH-W, puede ser un factor indicativo de una posible asociación del polimorfismo y la enfermedad de estudio³¹.

Otra forma de evaluar un polimorfismo es mediante una variable cuantitativa. Basándonos en el presente estudio, se midió si la cognición (variable continua) se veía afectada por el factor genético. De este modo, se mide el cociente intelectual y se compara si este es mayor o menor en individuos con ciertas variantes genéticas⁶⁸.

7.7 Diseño estadístico

Pruebas descriptivas

El análisis descriptivo se utilizó para detallar las características de la población de estudio. Se utilizó media y desviación estándar para las variables cuantitativas; para las variables cualitativas se utilizaron porcentajes.

Pruebas de normalidad

Se determinó el tipo de distribución de las variables cuantitativas, mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov que permite analizar 50 o más datos. Se toma como distribución normal cuando $p > 0.05$. Mientras que un valor de $p < 0.05$ indica que los datos tienen una distribución no normal.

Pruebas de comparación

Para identificar diferencias entre los grupos de estudio se utilizó U de Mann-Whitney para variables cuantitativas y Chi-cuadrada (χ^2) para variables cualitativas.

Pruebas de asociación

Para determinar la magnitud de la asociación entre las variables de estudio se utilizó la regresión logística multivariada, expresando los datos con el valor de razón de momios (OR), el intervalo de confianza y el valor p .

Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 18 para el análisis de los datos obtenidos en el estudio. Se consideró como prueba estadísticamente significativa un valor de $p < 0.05$.

8.- RESULTADOS

8.1 Participantes

El presente estudio analizó 100 adultos mayores mestizo-mexicanos (50 hombres y 50 mujeres), sus datos socio-demográficos se presentan en el cuadro 3. La edad promedio del total de individuos fue de 73.05 años (± 5.40) con un intervalo de edad de 65 a 89 años. El promedio de edad en hombres y mujeres fue 74.04 años (± 5.83) y 72.08 años (± 4.79), respectivamente. La edad entre los hombres y mujeres no presentó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.099$). Los años de escolaridad promedio para el total de la población fueron de 12 años (± 3.952), y no se encontró diferencia significativa en este parámetro entre hombres (12.06 años ± 4.40) y mujeres (11.94 años ± 3.48) ($p=0.634$). La proporción en el consumo de café y tabaco en la población total se observó en un 74% y 12%, respectivamente. En estos dos parámetros no se identificó diferencia significativa por género [consumo de café ($p=0.410$) y tabaco ($p=0.563$)].

El cuadro 4 describe los datos clínicos obtenidos de la población de estudio. La presencia de diabetes en el total de la población se reportó en 21%, y no se identificó diferencia significativa ($p=0.461$) entre hombres (18%) y mujeres (24%). Además, en los datos clínicos como glucosa ($p=0.909$), urea ($p=0.901$), triglicéridos ($p=0.363$) y colesterol ($p=0.409$) no se observó de igual forma diferencia significativa por género. No obstante, los niveles de glucosa (118.039 mg/dL (± 50.92)), triglicéridos (192.39 mg/dL (± 155.45)), y colesterol (208.406 mg/dL (± 43.64)), se encontraron fuera de los valores de referencia establecidos para cada elemento (menor a 110 mg/dL, menor a 150 mg/dL y menor a 200

mg/dL, respectivamente). Por otro lado, el nivel de urea en sangre (37.24 mg/dL (\pm 13.451)) se encontró dentro del valor de referencia (menor a 40 mg/dL) en población total.

Cuadro 3. Datos socio-demográficos de la población de estudio

Variable	Total n= 100	Hombres n= 50	Mujeres n= 50	Valor de p
Edad (años)	73.05 (\pm 5.40)	74.04 (\pm 5.83)	72.08 (\pm 4.79)	0.099
Años de escolaridad	12 (\pm 3.952)	12.06 (\pm 4.40)	11.94 (\pm 3.48)	0.634
Peso (Kg)	62.203 (\pm 20.82)	65.37 (\pm 23.58)*	59.036 (\pm 17.30)	0.001
Talla (m)	1.426 (\pm 0.489)	1.53 (\pm 0.45)*	1.32 (\pm 0.50)	0.001
Consumo de:				
Café	74 (74%)	36 (72%)	38 (79%)	0.410
Alcohol	30 (30%)	23 (46%) **	7 (14%)	0.0001
Tabaco	12 (12%)	7 (14%)	5 (10%)	0.563

*U de Mann-Whitney $p=0.001$. ** $\chi^2 p=0.0001$. Las variables Edad, Peso, Talla, Años de escolaridad se expresan en media y desviación estándar (DS). Las variables Café, Alcohol, Tabaco se expresan en porcentaje. La prueba de U de Mann-Whitney se realizó a variables cuantitativas no paramétricas; mientras la prueba de χ^2 se realizó para variables cualitativas.

Las variables clínicas que mostraron diferencias estadísticamente significativas por género fueron la prevalencia de hipertensión ($p=0.024$) y los niveles de creatinina ($p=0.0001$). La hipertensión se presentó en mayor proporción en mujeres (50%) con respecto a los hombres (28%). Los niveles de creatinina fueron mayor en hombres [0.95 mg/dL (\pm 0.19)] con respecto a mujeres [0.74 mg/dL (\pm 0.24)].

Cuadro 4. Datos clínicos de la población de estudio

Variable	Total n= 100	Hombres n= 50	Mujeres n= 50	Valor <i>p</i>
Hipertensión	39 (39%)	14 (28%)	25 (50%)*	0.024
Diabetes	21 (21%)	9 (18%)	12 (24%)	0.461
Glucosa	118.039 (± 50.92)	122.61 (± 60.64)	113.46 (± 38.96)	0.909
Urea	37.24 (± 13.451)	37.25 (± 12.25)	37.24 (± 14.67)	0.901
Creatinina	0.84 (± 0.246)	0.95 (± 0.19)	0.74 (± 0.24)**	0.0001
Triglicéridos	192.39 (± 155.45)	214.15 (± 206.79)	170.63 (± 71.38)	0.363
Colesterol	208.406 (± 43.64)	204.78 (± 47.67)	212.03 (± 39.36)	0.409

* χ^2 $p < 0.05$. **U de Mann-Whitney $p = 0.0001$. Las variables Hipertensión, Diabetes se expresan en porcentaje. Las variables Glucosa, Urea, Creatinina, Triglicéridos y Colesterol se expresan en media y desviación estándar (DS). La prueba de χ^2 se realizó para variables cualitativas. La prueba de U de Mann-Whitney se realizó para variables cuantitativas no paramétricas, respectivamente.

8.2 Evaluación de desempeño cognitivo por género

El desempeño cognitivo de los 100 adultos mayores se evaluó mediante el MMSE como se observa en el cuadro 5. El análisis cognitivo con esta prueba incluyó la evaluación del puntaje total del MMSE y las subpruebas que la conforman. Estas subpruebas evaluaron las siguientes funciones cognitivas: orientación T, orientación L, atención y cálculo, memoria diferida, lenguaje, comprensión, escritura y praxias. El promedio del puntaje total del MMSE se encontró de 28.17 puntos (± 1.61) en la población total. Sin embargo, no se encontró diferencia significativa en este puntaje entre hombres [28 (± 1.75)] y mujeres [28.34 (± 1.46)]

($p=0.392$). La puntuación promedio en las subpruebas para el total de la población se encontró en: 4.92 puntos (± 0.27) para orientación T, 4.96 puntos (± 0.197) en orientación L, 4.46 puntos (± 0.915) para atención y cálculo, 2.97 puntos (± 0.17) en lenguaje, 2.86 puntos (± 0.37) en comprensión, 0.95 puntos (± 0.21) para escritura y 0.88 puntos (± 0.32) en praxias. En estas siete subpruebas no se observó diferencia significativa por género [orientación T ($p=0.463$), orientación L ($p=0.310$), atención y cálculo ($p=0.300$), lenguaje ($p=0.560$), comprensión ($p=0.799$), escritura ($p=0.648$) y praxias ($p=0.540$)]. En cambio, en la subprueba memoria diferida se observó una diferencia significativa por género, teniendo un mayor puntaje las mujeres [2.40 (± 0.80)] con respecto a los hombres [1.94 (± 0.99)] ($p=0.014$).

Cuadro 5. MMSE como escala de evaluación cognitiva en la población de estudio

Variable	Total n= 100	Hombres n= 50	Mujeres n=50	Valor de p
MMSE	28.17 (± 1.61)	28 (± 1.75)	28.34 (± 1.46)	0.392
Orientación T	4.92 (± 0.27)	4.94 (± 0.24)	4.90 (± 0.30)	0.463
Orientación L	4.96 (± 0.197)	4.94 (± 0.24)	4.98 (± 0.141)	0.310
Atenc. Y Calc.	4.46 (± 0.915)	4.56 (± 0.83)	4.36 (± 0.98)	0.300
Memoria Dif.	2.17 (± 0.93)	1.94 (± 0.99)*	2.40 (± 0.80)	0.014
Lenguaje	2.97 (± 0.17)	2.96 (± 0.19)	2.98 (± 0.14)	0.560
Comprensión	2.86 (± 0.37)	2.86 (± 0.40)	2.86 (± 0.35)	0.799
Escritura	0.95 (± 0.21)	0.94 (± 0.24)	0.96 (± 0.19)	0.648
Praxias	0.88 (± 0.32)	0.86 (± 0.35)	0.90 (± 0.30)	0.540

U de Mann-whitney $p<0.05$. Las variables descritas en el cuadro anterior se expresan en media y desviación estándar (DS).

8.3 Genotipificación de la población

Las frecuencias alélicas y genotípicas que se obtuvieron en la muestra de adultos mayores se muestran en el cuadro 6. El alelo de menor frecuencia (MAF por sus siglas en inglés) fue el “A”, en una proporción del 28% en la población total del estudio. Las frecuencias genotípicas en la población total se presentó en: 54% para homocigotos al alelo “G” o “G/G”, 37% en heterocigotos “G/A”, y 9% para homocigotos al alelo “A” o “A/A”. Así mismo, se obtuvieron las frecuencias genotípicas con respecto al género. En los hombres, los genotipos se encontraron en un 58% para “G/G”, 34% de “G/A”, y 8% en “A/A”; para las mujeres un 50% fue “G/G”, 40% “G/A”, y 10% “A/A”. Sin embargo, no se observó diferencia significativa en la proporción de cada genotipo por género ($p=0.722$). Las frecuencias observadas para los tres genotipos del gen que codifica al receptor 5-HT_{2A} se encuentran en EH-W tanto para el total de la población ($p=0.4709$) como para hombres ($p=0.5092$) y mujeres ($p=0.7363$).

Por otra parte, el proyecto 1000 genomas es un estudio de carácter internacional que reporta un estimado de las frecuencias alélicas y genotípicas en la población mundial, por continentes (excepto Oceanía) y sub-población (de acuerdo al continente) de distintos polimorfismos entre ellos el SNP rs6311 del gen *5HTR2A*⁶⁹. Dicho lo anterior, se tomaron los datos de las frecuencias alélicas y genotípicas de una población americana, sub-población mexicana. Cabe destacar que esta sub-población consiste en voluntarios que radican en Los Ángeles, California, Estados Unidos de América con ancestría mexicana⁶⁹. Con respecto a lo anterior, las frecuencias alélicas del presente trabajo no presentan

diferencias significativas ($\chi^2=0.59$; $p= 0.4424$) con respecto a las observadas en el proyecto 1000 genomas con ancestría mexicana (67% en el alelo G y 33% para el alelo A).

Por lo que se refiere a las frecuencias genotípicas el proyecto 1000 genomas reportó que el 42% perteneció al genotipo G/G, 50% para el genotipo G/A y 8% con el genotipo A/A⁶⁸. No obstante, no se encontraron diferencias significativas entre la población del proyecto 1000 genomas y nuestra población de adultos mayores mestizo-mexicanos ($\chi^2=3.5$; $p=0.1738$).

Cuadro 6. Frecuencias genotípicas y alélicas en la variante genética rs6311

variante rs6311	Género		
	Total	Hombres	Mujeres
Frecuencia Alélica			
G	145 (72%)	75 (75%)	70 (70%)
A	55 (28%)	25 (25%)	30 (30%)
Frecuencia Genotípica			
G/G	54 (54%)	29 (58%)	25 (50%)
G/A	37 (37%)	17 (34%)	20 (40%)
A/A	9 (9%)	4 (8%)	5 (10%)
Equilibrio de Hardy-Weinberg	0.4709	0.5092	0.7363

χ^2 $p= 0.722$. Las variables descritas en el cuadro anterior se expresan en porcentajes n(%).

8.4 Evaluación del desempeño cognitivo por genotipo

En el cuadro 7, se comparó el puntaje total del MMSE y las 8 subpruebas con respecto a los tres genotipos presentes en la población de estudio. El promedio del puntaje del MMSE en los genotipos G/G, G/A y el A/A fue de 28.19 puntos (± 1.48), 28.24 puntos (± 1.83), y 27.78 puntos (± 1.56), respectivamente. No se observó diferencia significativa entre el puntaje total del MMSE por genotipo

(p=0.525). Los puntajes de las subpuebas orientación T (p=0.931), orientación L (p=0.751), memoria diferida (p=0.345), lenguaje (p=0.271), comprensión (p=0.230), escritura (p=0.496) y praxias (p=0.511) de igual forma, no mostraron diferencia significativa entre los tres genotipos. Sin embargo, el puntaje de atención y cálculo mostró una diferencia estadísticamente significativa (p=0.014) entre los genotipos. El puntaje en los G/G fue de 4.59 puntos (± 0.740), para los G/A de 4.46 puntos (± 0.989) y 3.67 puntos (± 1.225) en los A/A.

Cuadro 7. MMSE como escala de evaluación cognitiva por genotipo en el polimorfismo rs6311

Variable	Total n= 100	G/G n= 54	G/A n=37	A/A n= 9	Valor de p
MMSE	28.17 (± 1.61)	28.19 (± 1.48)	28.24 (± 1.83)	27.78 (± 1.56)	0.525
Orientación T	4.92 (± 0.27)	4.93 (± 0.264)	4.92 (± 0.277)	4.89 (± 0.333)	0.931
Orientación L	4.96 (± 0.197)	4.96 (± 0.191)	4.95 (± 0.229)	5 (± 1.000)	0.751
Atenc. Y Calc.	4.46 (± 0.915)	4.59 (± 0.740)	4.46 (± 0.989)	3.67 (± 1.225)*	0.014
Memoria Dif.	2.17 (± 0.93)	2.09 (± 0.917)	2.22 (± 0.947)	2.44 (± 1.014)	0.345
Lenguaje	2.97 (± 0.17)	2.94 (± 0.231)	3 (± 0.0)	3 (± 0.0)	0.271
Comprensión	2.86 (± 0.37)	2.83 (± 0.376)	2.92 (± 0.363)	2.78 (± 0.441)	0.230
Escritura	0.95 (± 0.21)	0.96 (± 0.191)	0.92 (± 0.277)	1 (± 0.0)	0.496
Praxias	0.88 (± 0.32)	0.87 (± 0.339)	0.86 (± 0.347)	1 (± 0.0)	0.511

*Kruskal-Wallis $p < 0.05$. Las variables descritas en el cuadro anterior se expresan en media y desviación estándar (DE)

8.5 Evaluación del desempeño cognitivo en el modelo genético

Se realizó un modelo genético para comparar los homocigotos “A/A” con los portadores del alelo “G” (homocigotos “G/G” + heterocigotos “G/A”) respecto al puntaje total del MMSE y sus subpruebas en la población de estudio. Los resultados de esta comparación se muestran en el cuadro 8. En el genotipo “A/A”,

el promedio del puntaje total del MMSE se observó de 27.78 puntos (± 1.62) y para los portadores del alelo “G” fue de 28.21 puntos (± 1.62). Sin embargo, no se encontró diferencia significativa en este parámetro entre los dos genotipos del modelo ($p=0.362$). En este sentido, los puntajes de las subpruebas orientación T ($p=0.720$), orientación L ($p=0.523$), memoria diferencia ($p=0.223$), lenguaje ($p=0.582$), comprensión ($p=0.403$), escritura ($p=0.473$) y praxias ($p=0.248$) no mostraron diferencia significativa con respecto al modelo genético.

No obstante, en el puntaje de atención y cálculo se identificó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.004$) entre los genotipos del modelo genético (A/A VS G/G+G/A). Se observó que el puntaje de los homocigotos “A/A” [3.67 puntos (± 1.22)] fue menor al puntaje de los portadores del alelo G [4.54 puntos (± 0.847)].

Cuadro 8. Evaluación cognitiva mediante el MMSE y sus subpruebas en el modelo genético: homocigotos al alelo “A/A” vs portadores del alelo “G” en el polimorfismo rs6311

Variable	Total n= 100	G/G /G/A n= 91	A/A n=9	Valor de p
MMSE	28.17 (± 1.61)	28.21 (± 1.62)	27.78 (± 1.56)	0.362
Orientación T	4.92 (± 0.27)	4.92 (± 0.26)	4.89 (± 0.33)	0.720
Orientación L	4.96 (± 0.197)	4.96 (± 0.206)	5 (± 0.0)	0.523
Atenc. Y Calc.	4.46 (± 0.915)	4.54 (± 0.847)	3.67 (± 1.22)*	0.004
Memoria Dif.	2.17 (± 0.93)	2.14 (± 0.926)	2.44 (± 1.014)	0.223
Lenguaje	2.97 (± 0.17)	2.97 (± 0.180)	3 (± 0.0)	0.582
Comprensión	2.86 (± 0.37)	2.87 (± 0.371)	2.78 (± 0.441)	0.403
Escritura	0.95 (± 0.21)	0.95 (± 0.22)	1 (± 0.0)	0.473
Praxias	0.88 (± 0.32)	0.87 (± 0.34)	1 (± 0.0)	0.248

U de Mann-whitney $p<0.05$. Las variables descritas en el cuadro anterior se expresan en media y desviación estándar ($\pm DS$).

8.6 Análisis de riesgo

En el cuadro 9, se estimó la magnitud de la asociación entre los genotipos del modelo genético y los puntajes de las evaluaciones cognitivas (totales del MMSE y sus subpruebas) en la muestra de adultos mayores. El análisis se expresa por el parámetro denominado razón de momios (RM) sin ajuste y ajustado por edad, género y años de escolaridad, así como su correspondiente intervalo de confianza al 95% (IC_{95%}).

El valor del RM [2.078 (IC_{95%} 0.382-11.297)] no mostró asociación entre el modelo genético y el puntaje total del MMSE ($p=0.331$). En este sentido, el RM de las subpruebas orientación T [1.500 (0.163-13.773)], orientación L [0.956 (0.915-0.999)], memoria diferida [0.375 (0.088-1.593)], lenguaje [0.967 (0.931-1.004)], comprensión [2.078 (0.382-11.297)], escritura [0.945 (0.899-0.993)] y praxias [0.868 (0.801-0.941)] no se identificó asociación ($p=0.543$, $p=1.000$, $p=0.292$, $p=1.000$, $p=0.331$, $p=1.000$, $p=0.595$, respectivamente).

En contraste, se observó una asociación estadísticamente significativa entre el modelo genético y el puntaje de la subprueba atención y cálculo ($p=0.007$). El modelo genético mostró que los portadores al alelo "A/A" poseen una susceptibilidad de 8.296 (IC_{95%} 1.618-42.537) veces a tener un menor rendimiento en la subprueba atención y cálculo en adultos mayores.

Además, se realizó el ajuste del RM con respecto a las variables de confusión (edad, género y años de escolaridad) para el puntaje total del MMSE y sus subpruebas. Se observó que la magnitud de la asociación ($p=0.011$) Del

modelo genético con la subprueba atención y cálculo persistió (8.575 IC_{95%} 1.626-45.205).

Cuadro 9. Estimación de riesgo del polimorfismo rs6311 en el modelo genético homocigotos “A/A” vs portadores del alelo “G” con respecto al MMSE y sub-pruebas

Variable	Valor de p	RM (IC _{95%})	Valor de p	RM (IC _{95%}) ajustado por edad, género y años de escolaridad
MMSE	0.331	2.078 (0.382-11.297)	0.235	3.013 (0.489- 18.582)
Orientación T	0.543	1.500 (0.163-13.773)	0.701	1.567 (0.159- 15.462)
Orientación L	1.000	0.956 (0.915-0.999)	0.999	0 (0)
Atención y Cálculo	0.007	8.296 (1.618-42.537)*	0.011	8.575 (1.626- 45.205)*
Memoria Dif.	0.292	0.375 (0.088-1.593)	0.262	0.423 (0.094-1.899)
Lenguaje	1.000	0.967 (0.931-1.004)	0.999	0 (0)
Comprensión	0.331	2.078 (0.382-11.297)	0.303	2.517 (0.434-14.585)
Escritura	1.000	0.945 (0.899-0.993)	0.999	0 (0)
Praxias	0.595	0.868 (0.801-0.941)	0.999	0 (0)

χ^2 p>0.05. En el cuadro anterior se expresa el valor de RM crudo y RM ajustado por edad, género y años de escolaridad con su intervalo de confianza al 95%.

9.- DISCUSIÓN

Durante el envejecimiento se presentan cambios normales en la cognición, pero con una alta variabilidad interindividual. Cabe señalar, que el proceso de envejecimiento y la cognición están asociados con factores ambientales y genéticos⁷. Dentro de estos factores, la serotonina o 5-HT está asociada con procesos motores, sensoriales y cognitivos. En este sentido, las variantes del gen *5HTR2A* se han relacionado con el desempeño cognitivo en diferentes poblaciones^{10,39,69,70}, sin embargo, en nuestra población de adultos mayores no se ha realizado. Por lo tanto, el presente trabajo analizó la variante rs6311 del gen *5HTR2A* y la función cognitiva en una muestra de adultos mayores mestizo-mexicanos⁵⁶.

El alelo A y el genotipo A/A se identificaron como los de menor frecuencia y no mostraron una diferencias con las reportadas por el proyecto 1000 genomas para una población con ancestría mexicana de Los Ángeles (USA), que puede servir como referencia internacional ($\chi^2=3.5$; $p=0.1738$). De igual forma, las frecuencias genotípicas de la muestra estudiada se encuentran en EH-W^{31,69}. Es decir, la transmisión de los alelos (de progenitores a descendientes) es al azar, de forma independiente y sin existir alguna fuerza evolutiva (ejemplo: efecto fundador, consanguinidad, mutación o migración). De igual manera indica que el método de genotipificación utilizado es idóneo y que las frecuencias genotípicas se mantienen constantes de una generación a otra.

Además, las frecuencias genotípicas observadas en nuestro trabajo también coinciden con las reportadas en un estudio que evaluó la relación de las variantes en 5HTR2A (rs6311 y rs6313) con el consumo de tabaco y el grado de adicción a la nicotina ($\chi^2=1.62$; $p=0.4449$) en población mestizo-mexicana de la Ciudad de México³³. En contraste, las frecuencias genotípicas en los controles reportadas por Genis-Mendoza⁷² *et al.* (2019) en población mestizo-mexicana del estado de Tabasco difieren con las observadas en nuestro estudio. En ese estudio se asociaron a las variantes rs6311 y rs6313 con trastornos alimenticios y comorbilidades de la conducta alimentaria (33.97 ± 10.08 años)⁷².

La diferencia en las frecuencias fenotípicas y alélicas de la variante 6311 entre estos estudios en población mexicana podrían atribuirse a la ancestría de las muestras analizadas. Así, se ha identificado que en población mestizo-mexicana⁵⁶ la proporción de genes indígenas, europeos y africanos es diferente dependiendo la región del país⁷³. Por ejemplo, los estados del norte (Sonora) presentan en mayor proporción genes con ancestría europea en comparación a los estados del sur (Guerrero), con una mayor proporción de ancestría indígena. Lo anterior, proporciona evidencia importante de la correcta caracterización de la muestra analizada y de los marcadores de ancestría (AIMs, por Ancestry Informative Markers)⁷⁴.

Por otro lado, se identificó que los individuos homocigotos al alelo A tuvieron un menor desempeño en la subprueba de atención y cálculo del MMSE en comparación con el genotipo G/G y G/A. Este resultado coincide con lo reportado por Reynolds⁷⁵ *et al.* (2006) que relacionaron al alelo A con un menor

desempeño en la memoria figurativa con respecto a los homocigotos G en población caucásica⁷⁵. En consonancia con estos resultados, diferentes estudios han reportado que este alelo es factor de riesgo. En población mestizo-mexicana (promedio de edad 54 ± 6 años) se ha asociado a los portadores del alelo A (homocigotos "A/A" y heterocigotos "G/A") con un riesgo al hábito de fumar cigarrillos (compararon a los fumadores empedernidos contra los no fumadores)³³. De igual forma, en población polaca⁴⁰, Han-China⁷¹ y caucásica⁷⁰ asociaron al alelo A con trastornos alimenticios (anorexia nerviosa).

En cambio, en población canadiense se ha observado al genotipo A/A con un mejor desempeño en tareas de memoria declarativa y atención selectiva¹⁰. A nivel nacional se ha relacionado al alelo G con trastornos de la alimentación incluyendo el riesgo de suicidio como comorbilidad del trastorno alimentación en pacientes mestizo-mexicanos⁷².

La discrepancia en los resultados de este estudio y los reportados en algunas investigaciones pueden deberse a diferencias en la etnicidad o al tamaño de muestra entre estudios⁷². Falkenberg³⁹ *et al.* (2011) sugiere que rs6311 afecta la función del promotor por cambios observados en la expresión del alelo asociada al tipo de enfermedad evaluada del gen *5HTR2A*³⁹.

Otra posible explicación a estas diferencias es la observada en la variante Val66Met del factor neurotrófico derivado de cerebro (BNDF, por sus siglas en inglés). Los factores reportados que influyen en la SNV Val66Met son: los ambientales, la edad, el sexo, el origen étnico, el modelo genético utilizado para el análisis, la interacción gen-gen y el rasgo evaluado⁷⁶.

En el presente estudio, se observó que los homocigotos al alelo A poseen 8 veces el riesgo de tener un bajo rendimiento en la sub-prueba de atención y cálculo del MMSE. A pesar de esto no existen investigaciones en otras poblaciones que apoyen los resultados de este estudio por lo que se requiere ampliar el tamaño de muestra para confirmar estos hallazgos. No obstante, el bajo rendimiento cognitivo observado en los homocigotos al alelo A podría deberse a una menor unión de serotonina al receptor 5-HT_{2A} comparado con los portadores del alelo G. Es decir, al haber menor unión de serotonina al receptor 5-HT_{2A}, el proceso de la sinapsis pudiera ser más lento, ocasionando que el procesamiento de la información para la realización de algún proceso cognitivo sea deficiente¹⁰.

La subprueba de atención y cálculo se basa en la realización de 5 restas consecutivas indicándole al participante que a 100 le reste 7, y al resultado nuevamente le reste 7 hasta completar las 5 restas. Cabe destacar que en la resolución de operaciones matemáticas participa la MT que permite retener información de manera temporal para realizar objetivos inmediatos o a corto plazo⁴⁸. Dicho lo anterior, la subprueba de atención y cálculo además de evaluar de manera general la atención, requiere de la MT para la realización de procesos matemáticos. Lo anterior podría relacionar al gen 5HTR2A y la variante rs6311 que se expresa en la corteza prefrontal, región importante en donde participa la MT^{24,48}

El tamaño de muestra es una de las limitaciones del presente estudio comparado con diferentes investigaciones donde es mayor. Además, se debe considerar realizar estudios que evalúen los diferentes tipos de atención para corroborar si el efecto observado sigue presente en la población. Esto se debe a

que el MMSE es una prueba de tamizaje, es decir, aborda distintos procesos de manera general.

10.- CONCLUSIÓN

En el presente estudio se identificó una asociación entre la variante rs6311 y el desempeño cognitivo para la subescala de atención y cálculo del MMSE en una muestra de población adulta mayor mestizo mexicana. El alelo "A" presentó un bajo desempeño cognitivo en comparación con los portadores del alelo "G".

Estos resultados proporcionan posibles contribuciones de la variante rs6311 del receptor 5-HT_{2A} en la cognición de adultos mayores mestizo-mexicanos.

11.- PERSPECTIVAS

Aunque los resultados obtenidos en este estudio son interesantes, se debe considerar aumentar el tamaño de muestra para la confirmación de los hallazgos obtenidos.

Realizar el análisis de haplotipos con otras variantes como rs6313 (en diferentes estudios se encuentran en desequilibrio de ligamiento con rs6311) y/o rs6314 debido a que estos SNV se han estudiado con el desempeño cognitivo y con diferentes patologías relacionadas con un déficit cognitivo.

Realizar un análisis estadístico con los datos de mujeres debido a que el estrógeno puede aumentar la densidad y el nivel de ARNm de los receptores 5-HT_{2A} en varias áreas del cerebro.

Analizar la interacción Gen-Gen por ejemplo: *BDNF*, *NR4A2*, transportador de serotonina (*5-HTTLPR*), receptor de serotonina 5-HT₁ (*HTR1A*), receptor de dopamina (D₁, D₂ o D₃).

Analizar la expresión del gen *5HTR2A* ya que el alelo "A" podría estar ocasionando una menor expresión del gen y en consecuencia una menor unión de 5-HT al receptor afectando el desempeño cognitivo de adultos mayores mestizo-mexicanos.

12.- REFERENCIAS

1. Estrella-Hernández A, González-Pedraza A, Moreno-Castillo C. Deterioro cognitivo y calidad de vida en ancianos de una clínica de medicina familiar de la Ciudad de México. Arch Med Fam. 2008; 10(4): 127-132
2. Kang Y, Lee E. Quality of Life and Its Factors in Korean Elderly With Mild Cognitive Impairment. Clin Nurs Res. 2018; 27(7): 871-889
3. Montes-Rojas J, Gutiérrez-Gutiérrez L, Silva-Pereira J, García-Ramos G, del Río-Portilla Y. Perfil cognoscitivo de adultos mayores de 60 años con y sin deterioro cognoscitivo. Rev Chil Neuropsicol. 2012; 7(3): 121-126
4. WHO.int. [Internet]. Suiza: World Health Organization; [Actualizado: 2015; Consultado: 30 Octubre 2018]. Disponible en: <https://www.who.int/ageing/publications/world-report-2015/es/>.
5. Foebel A, Pedersen N. Genetic Influences on Functional Capacities in Aging. Gerontologist. 2016; 56(2): 218–229
6. Murman D. The impact of age on cognition. Semin Hear. 2015; 36(3): 111-121
7. Harris S, Deary I. The genetics of cognitive ability and cognitive ageing in healthy older people. Trends Cogn Sci. 2011; 15(9): 388-94
8. WHO.int. [Internet]. Adultos mayores. Suiza: World Health Organization; [Actualización: 28 Septiembre 2018; Consultado: 29 Septiembre 2018]. Disponible en: http://search.who.int/search?q=adultos+mayores&ie=utf8&site=who&client=_es_r&proxystylesheet=_es_r&output=xml_no_dtd&oe=utf8&getfields=doctype

9. Lee T, Henry J, Trollor J, Sachdev P. Genetic influences on cognitive functions in the elderly: A selective review of twin studies. *Brain Res Rev.* 2010; 64(1): 1–13
10. Fiocco A, Joobar R, Poirier J, Lupien S. Polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene: Association with stress-related indices in healthy middle-aged adults. *Front Behav Neurosci.* 2007; 1(3): 1-7
11. Disner S, McGeary J, Wells T, Ellis A, Beevers C. 5-HTTLPR, HTR1A, and HTR2A cumulative genetic score interacts with mood reactivity to predict mood-congruent gaze bias. *Cogn Affect Behav Neurosci.* 2014; 14(4): 1259-1270
12. Wagner M, Schuhmacher A, Schwab S, Zobel A, Maier W. The His452Tyr Variant of the gene encoding the 5-HT_{2A} receptor is specifically associated with consolidation of episodic memory in humans. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008; 11(8): 1163-1167
13. Hsien-Yuan L, Yi-Ching L, Chieh-Liang H, Ching-Liang H, Yi-Lin C, Lauren C, *et al.* Prefrontal executive function and D₁, D₃, 5-HT_{2A}, and 5-HT₆ receptor gene variations in healthy adults. *J Psychiatry Neurosci.* 2008; 33(1): 47-53
14. Pinborg L, Arfan H, Haugbol S, Kyvik K, Hjelmborg J, Svarer C, *et al.* The 5-HT_{2A} receptor binding pattern in the human brain is strongly genetically determined. *NeuroImage.* 2008; 40(3): 1175-1180
15. Frokjaer V, Mortensen E, Nielsen F, Haugbol S, Pinborg L, Adams K, *et al.* Frontolimbic serotonin 2A receptor binding in healthy subjects is associated with personality risk factors for affective disorder. *Biol Psychiatry.* 2008; 63(6): 569-576
16. Moresco F, Dieci M, Vita A, Messa C, Gobbo C, Galli L, *et al.* In Vivo Serotonin 5HT_{2A} Receptor Binding and Personality Traits in Healthy Subjects: A Positron Emission Tomography Study. *Neuroimage.* 2002; 17(3): 1470–1478

17. Schott B, Seidenbecher C, Richter S, Wüstenberg T, Debska-Vielhaber G, Schubert H, *et al.* Genetic variation of the serotonin 2a receptor affects hippocampal novelty processing in humans. *PLoS One*. 2011; 6(1): e15984
18. Gong P, Li J, Wang J, Lei X, Chen D, Zhang K, *et al.* Variations in 5-HT_{2A} influence spatial cognitive abilities and working memory. *Can J Neurol Sci*. 2011; 38(2): 303-308
19. Azmitia E. Serotonin. In: *Encyclopedia of Life Sciences (eLS)*. 2012; 1-13. <http://www.els.net>. doi: 10.1002 / 9780470015902.a0000124.pub2
20. Sanders-Busch E, Nichols Ch. Serotonin receptors and neurotransmission. En: Robertson D, Biaggioni I, Burnstock G, Low PA, Paton J. *Primer on the autonomic nervous system*. 3rd ed. USA: Elsevier 2012. Pág: 83-86
21. Mohammad-Zadeh L, Moses L, Gwaltney-Brant S. Serotonin: a review. *J Vet Pharmacol Ther*. 2008; 31(3): 187-199
22. Hoyer D. Serotonin Receptors. In: *Encyclopedia of Life Sciences (eLS)*. 2010; 1-12. <http://www.els.net>. doi: 10.1002 / 9780470015902.a0000125.pub2
23. Berg K, Harvey J, Spampinato U, Clarke W. Physiological relevance of constitutive activity of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 2005; 26(12): 625-630
24. Aznar S, Herving M. The 5-HT_{2A} serotonin receptor in executive function: Implications for neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016; 64: 63–82
25. de Quervin D, Henke K, Aerni A, Coluccia D, Wollmer M, Hock C, *et al.* A functional genetic variation of the 5-HT_{2a} receptor affects human memory. *Nat Neurosci*. 2003; 6(11): 1141-1142.

26. Passetti F, Dalley J, Robbins T. Double dissociation of serotonergic and dopaminergic mechanisms on attentional performance using a rodent five-choice reaction time task. *Psychopharmacology (Berl)*. 2003;165(2):136-45.
27. Umbricht D, Vollenwieder F, Schmid L, Grübel C, Skrabo A, Huber T, *et al*. Effects of the 5-HT_{2A} agonist psilocybin on mismatch negativity generation and AX-continuous performance task: implications for the neuropharmacology of cognitive deficits in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 2003; 28(1): 170-181
28. den Dunnen J, Dalgleish R, Donna R, Hart R, Greenblatt M, McGowan-Jordan J, *et al*. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat*. 2016; 37(6): 564-569
29. Ramírez-Bello J, Vargas-Alarcón G, Tovilla-Zárate C, Fragoso J. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. *Gac Med Mex*. 2013; 149(2): 220-228
30. Chen X, Sullivan P. Single nucleotide polymorphism genotyping: biochemistry, protocol, cost and throughput. *Pharmacogenomics J*. 2003; 3(2): 77–96
31. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit*. 2005; 19(4): 333-341
32. Cao J, Liu X, Han S, Zhang C, Liu Z, Li D. Association of the HTR2A gene with alcohol and heroin abuse. *Hum Genet*. 2014; 133(3): 357–36
33. Pérez-Rubio G, Ramírez-Venegas A, Noé V, García L, Fabián K, García S, *et al*. Polymorphisms in HTR2A and DRD4 predispose to smoking and smoking quantity. *PLoS ONE*. 2017; 12(1): 1-11

34. Schott B, Seidenbecher C, Richter S, Wüstenberg T, Debska-Vielhaber G, Schubert H, *et al.* Genetic variation of the serotonin 2A receptor affects hippocampal novelty processing in humans. *PLoS One*. 2011; 6(1): 1-6
35. Blasi G, Selvaggi P, Fazio L, Antonucci L, Taurisano P, Masellis R, *et al.* Variation in dopamine D2 and serotonin 5-HT2A receptor genes is associated with working memory processing and response to treatment with antipsychotics. *Neuropsychopharmacology*. 2015; 40(7): 1600-1608
36. Gong P, Li J, Wang J, Lei X, Chen D, Zhang W, *et al.* Variations in 5-HT2A Influence Spatial Cognitive Abilities and Working Memory. *Can J Neurol Sci*. 2011; 38(2): 303-308
37. Polesskaya O, Solokov B. Differential expression of the “C” and “T” alleles of the 5-HT2A receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. *J Neurosci Res*. 2002; 67(6): 812-822
38. Parsons M, D’Souza U, Arranz M, Kerwin R, Makoff A. The -1438A/G polymorphism in the 5-hydroxytryptamine type 2^a receptor gene affects promoter activity. *Biol Psychiatry*. 2004; 56(6): 406-410
39. Falkenberg V, Gurbaxani B, Unger E, Rajeevan M. Functional genomics of serotonin receptor 2A (HTR2A): Interaction of polymorphism, methylation, expression and disease association. *Neuromolecular Med*. 2011; 13(1): 66-76
40. Rybakowski F, Slopian A, Dmitrzak-Weglar M, Czerski P, Rajewski A, Hauser J. The 5-HT2A -1438 A/G and 5-HTTLPR polymorphisms and personality dimensions in adolescent anorexia nervosa: association study. *Neuropsychobiology*. 2006; 53(1): 33-39

41. Gao X, Ge H, Jiang Y, Lian Y, Zhang C, Liu J . Relationship between Job stress and 5-HT_{2A} receptor polymorphisms on self-reported sleep quality in physicians in urumqi (Xinjiang, China): A cross-sectional study. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15(5): 1-15
42. Jin C, Xu W, Yuan J, Wang G, Cheng Z. Meta-analysis of association between the -1438A/G (rs6311) polymorphism of the serotonin 2A receptor gene and major depressive disorder. *Neurol Res*. 2013; 35(1): 7-14
43. Folstein M, Folstein S, McHugh P. “Mini-mental state” a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975; 12(3): 189-98
44. Creavin S, Wisniewski S, Noel-Storr A, Trevelyan C, Hampton T, Rayment D, *et al*. Mini-Mental State Examination (MMSE) for the detection of dementia in clinically unevaluated people aged 65 and over in community and primary care populations. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016; 13(1)
45. Grossman M, Irwin D. The Mental Status Examination in patients with suspected dementia. *Continuum (Minneap Minn)*. 2016; 22(2): 385–403
46. Ridha B, Rossor M. The minimal state examination. *Pract Neurol*. 2005; 5: 298-303
47. Jones R, Gallo J. Education and sex differences in the mini-mental state examination: effects of differential item functioning. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci*. 2002; 57(6): 48–58
48. Ardila A, Ostrosky F. Guía para el diagnóstico neuropsicológico. México: UNAM; 2012. p. 127-131

49. Blázquez J, Galparsoro N, González B, Lubrini G, Periañez J, Ríos M, *et al.* Estimulación cognitiva y rehabilitación neuropsicológica. UOC 2011. Disponible en: <http://reader.digitalbooks.pro/book/preview/28404/chap19.xhtml#>
50. McCloskey M, Aliminosa D, Sokol S. Facts, rules, and procedures in normal calculation: Evidence from multiple single-patient studies of impaired arithmetic fact retrieval. *Brain Cogn.* 1991; 17(2): 154-203.
51. González S, Fernández F, Duarte J. Memoria de trabajo y aprendizaje: implicaciones para la educación. *Saber, ciencia y libertad.* 2016. 11(2): 147-162.
52. Gamboa R, Hernández-Pacheco G, Hesiquio R, Zúñiga J, Massó F, Montaña L, *et al.* Apolipoprotein E polymorphism in the Indian and mestizo populations of México. *Hum Biol.* 2000; 72(6): 975-981.
53. Salud.gob.mx. [Internet]. Ley general de salud. México. [Consultado: 10 noviembre 2019]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>
54. wma.net. [internet]. Declaración de Helsinki. World Medic Association. [Actualizado: 2019, Consultado: 10 noviembre 2019]. Disponible en: <https://www.wma.net/es/policias-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>
55. Olay G, Díaz P, Hernández R, Cervantes-Villagrana R, Presno-Bernal J, Alcántara N. Determinación de intervalos de referencia para química clínica en población mexicana. *Rev Latinoamer Patol Clin.* 2013; 60(1): 43-51
56. Chacon-Cortes D, Griffiths L. Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives. *J Biorep Sci App Med.* 2014; 2: 1-9

57. Chacon-Cortes D, Haupt L, Lea R, Griffiths L. Comparison of genomic DNA extraction techniques from whole blood samples: a time, cost and quality evaluation study. *Mol Biol Rep.* 2012; 39(5): 5961–5966
58. Sajja S, Nandal D, Kamble S, Bharatha A, Kunkulol R. Genomic DNA isolation from human whole blood samples by non enzymatic salting out method. *Int J Pharm Sci.* 2014; 6(6): 198-199
59. Luque J, Herráez A. Texto ilustrado de biología molecular e ingeniería genética conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud. Harcourt. Madrid. 2002. p. 235-238
60. Vossen R, Aten E, Roos A. den Dunnen J. High-Resolution Melting Analysis (HRMA). More than just sequence variant screening. *Hum Mutat.* 2009; 30(6): 860–866
61. Sun W, Li J, Xiong C, Zhao B, Chen S. The potential power of Bar-HRM technology in herbal medicine identification. *Front Plant Sci.* 2016; 7(367): 1-10
62. Druml B, Cichna-Markl M. High resolution melting (HRM) analysis of DNA: Its role and potential in food analysis. *Food Chem.* 2014; 1(158): 245-254
63. Ensemblgenomes.org [Internet]. Ensembl genomes. Europa: Instituto Europeo de Bioinformática del Laboratorio Europeo de Biología Molecular. [Actualizado: julio 2018; Consultado: 18 julio 2018]. Disponible en: <http://ensemblgenomes.org/>
64. Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth B, Remm M, *et al.* Primer3-new capabilities and interfaces. *Nucl Acids Res.* 2012; 40(15): 1-12

65. Unafold.rna.albany.edu [Internet]. DINAmelt web. USA: Instituto Politécnico Rensselaer. [Actualizado: enero 2018; Consultado: 10 julio 2018]. Disponible en: <http://unafold.rna.albany.edu/?q=DINAmelt/Two-state-melting>
66. Blast.ncbi.nlm.nih.gov [Internet]. Nucleotide BLAST. USA: Biblioteca Nacional de Medicina. [Consultado: 10 de julio 2018]. Disponible en: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
67. Rodríguez-Porras L, Raventós-Vorst H. Identificación de genes causales y de susceptibilidad para enfermedades de herencia Mendeliana y compleja. Act Méd Costarric. 2009; 51(1): 10-15
68. Gonzales J. Diseño y análisis de estudios genéticos. En Colegio Oficial de Médicos de Barcelona. Diseño y análisis de investigaciones clínicas. España: Universidad de Barcelona. 2013.
69. Ensemblgenomes.org [Internet]. Ensembl genomes. Europa: Instituto Europeo de Bioinformática del Laboratorio Europeo de Biología Molecular. [Actualizado: junio 2019; Consultado: 14 junio 2019]. Disponible en: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=13:46896843-46897843;v=rs6311;vdb=variation;vf=41991412.
70. Ricca V, Nacmias B, Boldrini M, Cellini E, di Bernardo M, Ravaldi C, *et al*. Psychopathological traits and 5-HT_{2A} receptor promoter polymorphism (-1438 G/A) in patients suffering from Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa. Neurosci Lett. 2004; 365(2): 92-96
71. Kang Q, Chen J, Shunying Y, Yuan A, Zhang Y, Zhang R, *et al*. Association of the 5-HT_{2A} receptor gene promoter polymorphism -1438G/A with anorexia nervosa

and psychopathological traits in the Chinese Han population: A preliminary study. 2017; 9(3): 1-4

72. Genis-Mendoza A, Ruíz-Ramos D, López-Narvaez M, Tovilla-Zárate C, García A, Cortes G, *et al.* Genetic association analysis of 5-HTR2A gene variants in eating disorders in a Mexican population. *Brain Behav.* 2019; 9(7): 1-8

73. Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernandez-Lopez J, Uribe-Figueroa L, Contreras A, *et al.* Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proc Natl Acad Sci US A.* 2009; 106(21): 8611-8616

74. Moreno A, Sandoval K. Diversidad genómica en México. Pasado indígena y mestizaje. *Cuicuilco.* 2013; 20(58): 249-275.

75. Reynolds A, Jansson M, Gatz M, Pedersen L. Longitudinal change in memory performance associated with *HTR2A* polymorphism. *Neurobiol Aging.* 2006; 27(1): 150-154

76. Tsai S. Critical Issues in BDNF Val66Met Genetic Studies of Neuropsychiatric Disorders. *Front Mol Neurosci* 2018; 11(156): 1-15.

77. Conbioetica-mexico.salud.gob.mx [Internet]. Consentimiento informado. México, centro del conocimiento bioetico. [Actualizado: 21 Abril 2015, Consultado: 10 noviembre 2019]. Disponible en: http://www.conbioetica-mexico.salud.gob.mx/interior/temasgeneral/consentimiento_informado.html

78. Cenetec.salud.gob.mx. [Actualizado: 2012, Consultado: 10 noviembre 2019]. Disponible en: cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/144_GPC_DEMENCIA_AM/IMSS_144_08_EyR_DEMENCIA_AM.pdf

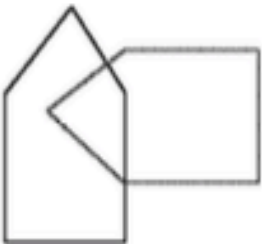
13.- ANEXOS

13.1- Consentimiento informado

El consentimiento informado es el respeto a la autonomía de las personas en el ámbito de la atención médica y de la investigación en salud. Es decir, un proceso continuo y gradual que se da entre el personal de salud y el paciente, consolidándose en un documento⁷⁷.

En este documento el personal de salud informa al participante o paciente, de forma clara sobre la naturaleza de la investigación, enfermedad, el procedimiento diagnóstico o terapéutico que se propone utilizar, los riesgos y beneficios que éste conlleva y las posibles alternativas. Cabe mencionar, que este escrito sólo es el resguardo de que se ha informado y que el paciente ha comprendido la información. Por lo tanto, el consentimiento informado es la manifestación de la actitud responsable y bioética del personal médico o de investigación en salud, que eleva la calidad de los servicios y garantiza el respeto a la dignidad, y confidencialidad de las personas⁷⁷.

13.2- Escala del MMSE

(NO SABE LEER NI ESCRIBIR _____ AÑOS DE ESCOLARIZACIÓN: _____)		PUNTOS
ORIENTACIÓN EN EL TIEMPO Y ESPACIO.		
¿QUÉ DÍA DE LA SEMANA ES HOY? ¿CUÁL ES EL AÑO? ¿CUAL ES EL MES? ¿CUAL ES EL DÍA? ¿CUAL ES LA ESTACIÓN DEL AÑO? (MÁXIMO 5 PUNTOS)		0 - 5
"DÍGAME EL NOMBRE DEL HOSPITAL, ¿EN QUE PISO ESTAMOS? ¿EN QUE CIUDAD ESTAMOS? ¿EN QUE ESTADO VIVIMOS? ¿EN QUE PAÍS ESTAMOS? (MÁXIMO 5 PUNTOS.)		0 - 5
FIJACIÓN		
"REPITA ESTAS PALABRAS: CABALLO, PESO, MANZANA". (ANOTE UN PUNTO CADA VEZ QUE LA PALABRA SEA CORRECTA. (MÁXIMO 3 PUNTOS.)		0 - 3
CONCENTRACIÓN Y CÁLCULO		
"SI TIENE 100 PESOS Y ME LOS DA DE SIETE EN SIETE, ¿CUÁNTOS LE QUEDAN?" (ANOTE UN PUNTO CADA VEZ QUE LA DIFERENCIA SEA CORRECTA AUNQUE LA ANTERIOR FUERA INCORRECTA. (MÁXIMO 5 PUNTOS.)		0 - 5
MEMORIA.		
"¿RECUERDA USTED LAS TRES PALABRAS QUE LE DIJE ANTES? DÍGALAS" (MÁXIMO 3 PUNTOS).		0 - 3
LENGUAJE Y CONSTRUCCIÓN.		
"¿QUÉ ES ESTO?" (MOSTRAR UN RELOJ) "¿Y ESTO?" (MOSTRAR UN BOLÍGRAFO). (MÁXIMO 2 PUNTOS.)		0 - 2
"REPITA LA SIGUIENTE FRASE: NI SI, NI NO, NI PERO". (1 PUNTO).		0 - 1
"TOME EL PAPEL CON LA MANO IZQUIERDA, DÓBLELO POR LA MITAD Y PÓNGALO EN EL SUELO" (ANOTE UN PUNTO POR CADA ORDEN BIEN EJECUTADA). (MÁXIMO 3 PUNTOS).		0 - 3
"LEA ESTO Y HAGA LO QUE DICE:" "CIERRE LOS OJOS" (1 PUNTO).		0 - 1
"ESCRIBA UNA FRASE COMO SI ESTUVIERA CONTANDO ALCO EN UNA CARTA" (1 PUNTO).		0 - 1
"COPIE ESTE DIBUJO" (1 PUNTO).		0 - 1
	(CADA PENTÁGONO DEBE TENER 5 LADOS Y 5 VÉRTICES Y LA INTERSECCIÓN FORMA UN DIAMANTE) NOTA: TANTO LA FRASE COMO LOS PENTÁGONOS CONVIENE TENERLOS EN TAMAÑO SUFICIENTE PARA PODER SER LEÍDOS CON FACILIDAD. EL PACIENTE DEBERÁ UTILIZAR ANTEOJOS SI LOS NECESITA HABITUALMENTE.	
		TOTAL _____
PUNTO DE CORTE: 24-30 PUNTOS NORMAL. GRADO DE DETERIORO COGNOSCITIVO: 19-23 = LEVE; 14 - 18 = MODERADO; Menor a14 = GRAVE.		

Cuadro 10. Tomado de: Guía de practica clínica: Diagnostico y tratamiento del deterioro cognoscitivo en el adulto mayor en el primer nivel de atención⁷⁸.
http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/144_GPC_DEMENCIA_AM/IMS_S_144_08_EyR_DEMENCIA_AM.pdf [Consultado: 25/enero/2020, actualizado: 2012]