



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE
LA SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA "RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ"

CUANTIFICACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE GENES ASOCIADOS AL TRASTORNO DEPRESIVO, EN
CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA DE PILOTOS AVIADORES

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:
MARÍA IRMA OLVERA ALVAREZ

TUTOR PRINCIPAL:
DR. LENIN PAVÓN ROMERO
Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente Muñiz"

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:
DRA. MARÍA LUCINDA AGUIRRE CRUZ. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía
"Manuel Velasco Suárez"
DRA. DULCE MARÍA HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ. División de Mejora a la Gestión de los
Servicios de Salud, IMSS.
DRA. DANIELA MENDIETA CABRERA. Instituto Nacional de Psiquiatría "Ramón de la Fuente
Muñiz"
DRA. BLANCA REBECA IBARRA IBARRA. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez"

Ciudad Universitaria, CD.MX.

Mayo 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios, antes que nada, por permitir que culmine un objetivo más en mi desarrollo profesional y por poner en mi camino todos los medios y todas las personas que me apoyaron para conseguirlo.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT y a mi alma mater, la Universidad Nacional Autónoma de México, por su apoyo para la realización de este proyecto de Tesis.

Agradezco también a la Secretaría de Comunicaciones y Transportes, por su apertura ante los proyectos de investigación encaminados a mejorar la seguridad en el transporte y a mejorar las condiciones de salud de sus usuarios. En especial quiero agradecer al Químico José Antonio José Alfallo, así como a los Directivos y compañeros que se involucraron con entusiasmo al proyecto.

Infinitas gracias al Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, a mi Director de Tesis Dr. Lenin Pavón Romero, a sus colaboradores siempre dispuestos a enseñarme y corregirme, al Dr. Gilberto Pérez, al Biólogo Rosendo del Ángel, a todos los médicos y profesionales de la salud que luchan por darle visibilidad a los trastornos mentales.

Gracias sinceras a mis Sinodales por sus valiosas aportaciones en la elaboración de esta Tesis.

Finalmente quiero agradecer a todos aquellos que me acompañaron en este proceso: a Erick con todo mi amor, a mis amigas Emilia, Dione, Nadia, Gabriela y Weber por instarme constantemente a terminar la Tesis. A los Warriors de la SCT por creer en mí, en especial al Dr. Yabelardo por tener la culpa de todo. A mis padres, Josefina Alvarez Hernández y Elias Olvera Hernández † por su amor y paciencia, les debo todo.

DEDICATORIA

Dedicado especialmente a mi pequeña Fátima: nada es imposible, nunca es demasiado tarde, ten confianza en ti misma, lograrás todo lo que te propongas, a tu ritmo y estilo, porque estás llena de energía, amor, determinación y alegría. De hecho, ya eres parte de muchas cosas buenas e importantes, como esta tesis de tu mamá Pili, por ejemplo ;)

RESUMEN

ANTECEDENTES: Poco se sabe acerca de la prevalencia real del trastorno depresivo en pilotos aviadores, probablemente debido a que se encuentra subdiagnosticado. Hasta el momento, el diagnóstico del trastorno depresivo es meramente clínico, por lo que la capacidad de detección de esta patología se basa en el juicio clínico y en la veracidad de la información proporcionada por el individuo evaluado. El análisis de expresión de genes del sistema serotoninérgico en células mononucleares de sangre periférica promete ser una herramienta de tamizaje para el trastorno depresivo en población no hospitalaria, como son los pilotos aviadores.

OBJETIVO: cuantificar la expresión relativa de los genes *SLC6A4*, *HTR1A* y *S100A10* en una muestra de pilotos aviadores y comparar su perfil de expresión con el de pacientes diagnosticados con trastorno depresivo mayor (TDM) y sujetos control.

METODOLOGÍA: Se cuantificó la expresión de *SLC6A4*, *HTR1A* y *S100A10*, en células mononucleares de sangre periférica por PCR cuantitativa, en pilotos aviadores, comparando con pacientes con depresión y voluntarios sanos.

RESULTADOS: Se encontraron diferencias en el cociente de expresión relativa de *SLC6A4* y *S100A10* entre los sujetos control y los pacientes con TDM ($p < 0.05$), así como entre los sujetos control y los pilotos aviadores ($p < 0.05$), por otro lado, no se encontraron diferencias entre los pilotos aviadores y los pacientes ($p = 0.748$, $p = 0.131$).

CONCLUSIONES: Pese a que se encontró un perfil de expresión génica similar a nivel molecular entre pacientes con TDM y pilotos aviadores, ninguno de éstos últimos fue diagnosticado en la valoración psicológica con algún desorden psiquiátrico, se desconoce si esto podría deberse a que el padecimiento fue subdiagnosticado o si el perfil de expresión genética observada en los pilotos aviadores se podría traducir en un estado de predisposición biológica que aún no desarrolla manifestaciones clínicas. Independientemente de lo que signifiquen estos hallazgos, es conveniente robustecer los métodos de detección de las patologías psiquiátricas en los Pilotos aviadores y continuar la investigación de potenciales biomarcadores diagnósticos para el TDM.

ABSTRACT

BACKGROUND: Little is known about the actual prevalence of depressive disorder in aircraft pilots, probably because it's underdiagnosed. So far, the depressive disorder diagnosis is purely clinical, so the detection capacity to this pathology is based on clinical judgment and the information's veracity provided by the evaluated individual. The gene expression analysis of serotonergic system in peripheral blood mononuclear cells promises to be a useful depressive disorder screening tool in the non-hospital population, as is the aircraft pilots.

OBJETIVE: The study objective was the relative expression quantification to *SLC6A4*, *HTR1A* and *S100A10* genes in a aircraft pilots sample and to compare their expression profile with the one of Major Depressive Disorder patients (MDD) and control subjects.

MATERIAL AND METHODS: We quantified, by quantitative PCR, the expression of *SLC6A4*, *HTR1A* and *S100A10*, in peripheral mononuclear cells of airline pilots compared to patients with depression and healthy volunteers.

RESULTS: Differences in the relative expression of *SLC6A4* and *S100A10* quotient were found between control subjects and patients with MDD ($p < 0.05$), and between control subjects and aircraft pilots ($p < 0.05$), on the other hand, no differences were found between aircraft pilots and MDD patients ($p = 0.748$, $p = 0.131$).

CONCLUSIONS: Although a similar gene expression profile was found at molecular level among MDD patients and aircraft pilots, none of the latter was diagnosed in the psychological assessment with any psychiatric disorder, it is unknown if this could be due to an underdiagnosis or if the gene expression profile observed in the aircraft pilots could be translated into a state of biological predisposition that has not yet developed clinical manifestations. Whatever these findings means, it is convenient to strengthen the detecting methods of psychiatric pathologies in aircraft pilots and continue the investigation of potential MDD diagnostic biomarkers.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
RESUMEN	iii
INDICE DE TABLAS	viii
INDICE DE FIGURAS	ix
ABREVIATURAS	x
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. ANTECEDENTES	
II. A. TRASTORNO DEPRESIVO MAYOR	3
II. A. 1. Conceptualización	3
II. A. 2. Criterios diagnósticos	4
II. A. 3. Impacto social y económico	5
II. A. 4. Factores de riesgo	6
II. A. 4. a. Factores de riesgo psicosociales	6
II. A. 4. a. i. Estrés laboral	6
II. A. 4. b. Factores de riesgo biológicos	7
II. A. 4. b. i. Factores genéticos	8
II. A. 4. b. ii. Factores neuroendocrinoimmunológicos	10
II. A. 4. b. iii. El papel de la inflamación	14
II. A. 4. b. iv. Alteración de las monoaminas	15
II. A. 5. Bases biológicas de la resiliencia	16
II. A. 6. Una visión integrada del trastorno depresivo mayor	17
II. B. EVALUACIÓN DE LA SALUD MENTAL EN PILOTOS AVIADORES	18
II. B. 1. Problemas de salud mental en pilotos aviadores	18

II. B. 2. Seguridad en el transporte aéreo	19
II. B. 3. Subdirección de Certificación Aeromédica y Marítima	21
II. B. 3. a. Función de la Subdirección de Certificación Aeromédica y Marítima	21
II. B. 3. b. Evaluación de la salud mental en el examen psicofísico integral	22
II. C. POTENCIALES BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DEL TRASTORNO DEPRESIVO MAYOR	23
II. C. 1. Concepto y clasificación de biomarcadores	23
II. C. 2. Marcadores bioquímicos en el diagnóstico de la depresión	26
II. C. 3. Marcadores genéticos asociados con el trastorno depresivo mayor	27
II. C. 4. Análisis de expresión génica en células mononucleares de sangre periférica	29
CAPÍTULO III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
III. A. JUSTIFICACIÓN	32
III. B. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	32
III. C. HIPÓTESIS	32
III. D. OBJETIVOS	33
CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA	
IV. A. DISEÑO DEL ESTUDIO	34
IV. B. VARIABLES	34
IV. C. FLUJO DE TRABAJO	36
IV. D. CAPTACIÓN DE PARTICIPANTES	36
IV. E. EVALUACIÓN CLÍNICA	38
IV. E. 1. Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional	38
IV. E. 2. Inventario de depresión de Beck	38
IV. E. 3. Escala de depresión de Hamilton	39
IV. E. 4. Escala de ansiedad de Hamilton	39
IV. F. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	40
IV. F. 1. Toma de muestra	40
IV. F. 2. Obtención de células mononucleares de sangre periférica	40
IV. F. 3. Aislamiento de ácido ribonucleico	41
IV. F. 4. Cuantificación e integridad de ácido ribonucleico	42

IV. F. 5. Obtención de ácido desoxirribonucleico complementario	42
IV. F. 6. Reacción en Cadena de la Polimerasa punto final	43
IV. F. 7. Estandarización de la expresión de los genes <i>SLC6A4</i> , <i>HTR1A</i> , <i>S100A10</i> y <i>ACTB</i>	44
IV. F. 8. Determinación de la expresión génica por Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (RT- qPCR)	45
IV. G. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	47
IV. H. CONDICIONES ÉTICAS	47
CAPÍTULO V. RESULTADOS	
V. A. CAPTACIÓN DE PARTICIPANTES Y EVALUACIÓN CLÍNICA	48
V. B. EVALUACIÓN PSICOLÓGICA/PSIQUIÁTRICA	53
V. C. ANÁLISIS MOLECULAR DE LAS MUESTRAS	57
	65
CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN	
CONCLUSIONES	71
ANEXOS	
Anexo 1. Pruebas Clinimétricas	73
Anexo 2. Sondas para los ensayos de PCR en tiempo real	79
Anexo 3. Parámetros del método de PCR tiempo en tiempo real	83
REFERENCIAS	85
VITA	102
ARTÍCULO: Screening of SERT and p11 mRNA Levels in Airline Pilots: A Traslational Approach	105

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	TÍTULO	PÁGINA
1	Criterios diagnósticos del DSM-5 para TDM	4
2	Prevalencia del trastorno depresivo a lo largo de la vida por grupo de edad, en México	5
3	Lista de causas contribuyentes de accidentes aéreos fatales y no fatales de acuerdo con la Red de Seguridad en Aviación (ASN) ^a	20
4	Aspectos que se evalúan en el Examen Psicofísico Integral en México.	22
5	Biomarcadores desarrollados para la detección del trastorno depresivo mayor	26
6	Descripción de las variables	34
7	Criterios de inclusión	37
8	Criterios de exclusión	37
9	Secuencia de los cebadores para amplificación de <i>ACTB</i>	43
10	Condiciones de amplificación PCR punto final para <i>ACTB</i>	43
11	Condiciones de amplificación PCR punto final para <i>SLC6A4</i> , <i>HTR1A</i> , <i>S100A10</i> y <i>ACTB</i>	44
12	Protocolo de QIAquick Gel Extraction Kit®	45
13	Condiciones de amplificación PCR tiempo real	46
14	Cuantificación relativa de <i>SLC6A4</i> y <i>S100A10</i> por grupos	63
15	Comparación de expresión relativa de <i>SCL6A4</i> y <i>S100A10</i> por grupos	64

ÍNDICE DE FIGURAS

FIG.	TÍTULO	PÁGINA
1	Cascada de eventos activada por el estrés agudo y crónico	11
2	Estrés y sistema serotoninérgico	16
3	Flujo de trabajo	36
4	Diagrama del procesamiento de las muestras	40
5	Interfases del gradiente de densidad	41
6	Gráfico descriptivo de los grupos de estudio por sexo	49
7	Gráfico descriptivo de los grupos de estudio controles, pacientes y pilotos aviadores, por edad de los participantes al momento del estudio	50
8	Gráfico descriptivo de los grupos de estudio Controles, Pacientes y Pilotos aviadores, por estado civil	51
9	Gráfico descriptivo de nivel socioeconómico de acuerdo con ingresos mensuales, en pilotos aviadores	51
10	Gráfico descriptivo de escolaridad en pilotos aviadores	52
11	Gráfico descriptivo de horas de vuelo de pilotos aviadores	52
12	Puntaje de HDRS en pacientes con TDM, sujetos control y pilotos aviadores	53
13	Puntaje de BDI en pacientes con TDM, sujetos control y pilotos aviadores	53
14	Puntaje de HAMA en pacientes con TDM, sujetos control y pilotos aviadores	54
15	Severidad de TDM por puntaje de HDRS en pacientes	55
16	Severidad de TDM por puntaje de BDI en pacientes	55
17	Frecuencia de los diferentes grados de ansiedad (determinada por HAMA) en pacientes con TDM, contrastado por gravedad del trastorno depresivo (de acuerdo a puntaje de HDRS)	56
18	Concentración promedio de RNA por grupos	58
19	Gel de integridad de RNA	58
20	Gel de agarosa para verificar la amplificación de <i>ACTB</i>	59
21	Gráfico de amplificación para <i>HTR1A</i>	60
22	Cociente Ct_{SCL6A4} / Ct_{ACTB} por grupos	61
23	Cociente $Ct_{S100A10} / Ct_{ACTB}$ por grupos	62

ABREVIATURAS

2 ^{-ΔCt}	2 ^{^-delta ct}	5HT	5-hidroxitriptamina
5-HT1A	Del inglés 5-Hydroxytryptamine receptor 1 ^a , receptor 1A de 5-hidroxitriptamina	5-HT2	Del inglés 5-Hydroxytryptamine receptor 2, receptor 2 de 5-hidroxitriptamina
5-HT1B	Del inglés 5-Hydroxytryptamine receptor 1B, receptor 1B de 5-hidroxitriptamina	5-HTTLPR	Del inglés short polymorphism of the serotonin transporter, polimorfismo corto del transportador de serotonina
A	Adrenalina	Ach	Acetilcolina
ACTH	Del inglés adrenocorticotropic hormone, hormona adrenocorticotropa	ADN	Acido Desoxirribonucleico
APOE	Apolipoproteína E	ASN	Del inglés Aviation Safety Network, Red de Seguridad en Aviación
AVAD	Años de vida ajustados por discapacidad	AVP	Arginina vasopresina
BDI	Inventario de Depresión de Beck	BDNF	Del inglés Brain-derived Neurotrophic Factor, Factor neurotrófico derivado del cerebro
C3	Complemento 3	C4	Complemento 4
CAMI	Del inglés Civil Aerospace Medical Institute, Instituto Médico Aeroespacial Civil	CIE-10	Clasificación internacional de enfermedades 10. ^a revisión
CNVs	Del inglés Copy number variation, variaciones en el número de copias de ADN	COMT	Catecol O-metiltransferasa
CRF	Del inglés Corticotropin Releasing Factor, Factor Liberador de Corticotropina	CRF1	Del inglés Corticotropin-releasing hormone receptor 1, Receptor 1 de factor liberador de corticotropina
CRF2	Del inglés Corticotropin-releasing hormone receptor 2, Receptor 2 de factor liberador de corticotropina	Ct	Ciclo umbral
DA	Dopamina	D.E.	Desviación estándar
dex / CRH	Dexametasona / hormona liberadora de corticotropina	DGPMPPT	Dirección General de Protección y Medicina Preventiva en el Transporte
DRD3	Del inglés Dopamine Receptor D3, Receptor de Dopamina D3	DRD4	Del inglés Dopamine Receptor D4, Receptor de Dopamina D4
DSM-5	Del inglés Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5ed., Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales 5ta edición	EASA	Del inglés European Aviation Safety Agency, Agencia de Seguridad Europea de Aviación

Fig.	Figura.	FSF	Del inglés Flight Safety Fundation, Fundación de Seguridad Aérea
GNB3	Del inglés G protein subunit beta 3, subunidad beta 3 de la proteína G	GWAS	Del inglés Genome Wide Association Studies, Estudio de asociación del genoma completo
HAMA	Escala de Ansiedad de Hamilton	HDRS	Escala de Depresión de Hamilton
HHA	Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal	HHG	Hipotálamo-Hipófisis-Gonadal
HHT	Hipotálamo-Hipófisis-Tiroideo	<i>HTR1A</i>	Del inglés 5-Hydroxytryptamine Receptor 1 ^a , Gen que codifica al Receptor 1A de 5-hidroxitriptamina
<i>HTR2A</i>	Del inglés 5-Hydroxytryptamine Receptor 2 ^a , Gen que codifica al Receptor 2A de 5-hidroxitriptamina	<i>HTR1B</i>	Del inglés 5-Hydroxytryptamine Receptor 1B, Gen que codifica al Receptor 1B de 5-hidroxitriptamina
<i>HTR2C</i>	Del inglés 5-Hydroxytryptamine Receptor 2C, Gen que codifica al Receptor 2C de 5-hidroxitriptamina	IC 95%	Intervalo de Confianza de 95%
IDO	Indolamina 2-3 dioxigenasa	IFN-γ	Interferón gamma
IgA	Inmunoglobulina A	IgM	Inmunoglobulina M
IL-1	Interleucina 1	IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4	IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6	IL-8	Interleucina 8
IL-13	Interleucina 13	INEI	Interacciones NeuroEndocrinolInmunológicas
ISRS	Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina	LDL	Del inglés Low Density Lipoproteins, Lipoproteínas de Baja Densidad
LPS	Lipopolisacáridos	MAOA	Monoamino oxidasa A
MINI	Del inglés International Neuropsychiatric Interview, Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional	ml	Mililitros
MTHFR	Metil-TetraHidroFolato-Reductasa	NA	Noradrenalina
NF-κB	Factor Nuclear kappa B	ng	Nanogramos
NK	Del inglés Natural Killer, célula asesina natural	NMDA	Del inglés N-methyl-D-aspartate Receptor, Receptor de N-metil-D-aspartato
NTSB	Del inglés National Transportation Safety Board, Junta Nacional de Seguridad del Transporte	OACI	Organización de Aviación Civil Internacional
PBMC	Del inglés Peripheral Blood Mononuclear Cells, Células Mononucleares de Sangre Periférica	PCLO	Del inglés Piccolo Presynaptic Cytomatrix Protein, Proteína Piiccolo de Citomatrix presináptica

PCR	Del inglés Polymerase Chain Reaction, Reacción en Cadena de la Polimerasa	PG-E2	Prostaglandina E2
RM	Razón de Momios	Rra	Riesgo Relativo Ajustado
RT- qPCR	Del inglés Quantitative reverse transcription PCR, Reacción en cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa	<i>S100A10</i>	Del inglés S100 Calcium Binding Protein A10, gen que codifica para la proteína P11
SCAM	Subdirección de Certificación Aeromédica y Marítima	SCL 90R	Del inglés Symptom Checklist 90 ítems, Inventario de Síntomas de 90 Reactivos
SCT	Secretaría de Comunicaciones y Transportes	SERT	Del inglés, serotonin transporter, transportador de serotonina
SLC	Del inglés solute carrier, acarreador de solutos	<i>SLC6A4</i>	Del inglés solute carrier family 6 member 4, gen que codifica para el transportador de solutos de la familia 6 miembro 4 (SERT)
SNC	Sistema Nervioso Central	SNPs	Del inglés Single Nucleotide Polymorphism, Polimorfismos de un solo nucleótido
TDO	Triptófano 2-3 DiOxigenasa	Th1	Del inglés T helper 1, Linfocitos T cooperadores tipo 1
TDM	Trastorno Depresivo Mayo	TNF- α	Del inglés Tumor necrosis factor-alpha, factor de necrosis tumoral alfa
VGF	Del inglés VGF Nerve Growth Factor Inducible, Factor de crecimiento nervioso inducible		

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Los pilotos son seres biopsicosociales sometidos a múltiples fuentes de estrés, relacionado con cuestiones laborales(1), el soporte social(2), los problemas familiares(3) e inclusive la alteración de los ritmos circadianos de sueño/vigilia(4), que los hace susceptibles al desarrollo de psicopatologías como depresión(3). Para aumentar la seguridad en el transporte aéreo, se realiza un examen psicofísico periódico a los pilotos aviadores a nivel mundial, reportándose una prevalencia de TDM de 1.9% a 12.6% en pilotos comerciales(5), mientras que en población general, para la mayoría de los países, se calcula una prevalencia de 8 al 12% a lo largo de la vida(6), apreciándose un probable subdiagnóstico, que podría atribuirse a varios factores, incluido el temor a repercusiones laborales y económicas(7), así como la capacidad de detección, que se basa en el juicio clínico y en la veracidad de la información proporcionada por el individuo evaluado(8).

Durante los últimos 50 años se han investigado potenciales biomarcadores diagnósticos para el TDM(9–13). Se descubrió que las mismas alteraciones de la vía serotoninérgica detectadas en neuronas, se expresan en linfocitos(14–16), por lo que se han realizado diversos estudios sobre expresión génica en células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés: peripheral blood mononuclear cells) para el seguimiento de pacientes con depresión, identificando perfiles de expresión característicos en pacientes con TDM(17–19). Hasta el momento no se han realizado estudios de expresión de genes involucrados en la vía serotoninérgica en población no hospitalizada. En este estudio se planteó analizar a pilotos aviadores, conocer si el resultado del análisis de expresión concuerda o no con los resultados de la evaluación psicológica que se realiza de rutina y con los puntajes de las pruebas clinimétricas de uso más habitual en psiquiatría, así como conocer la expresión diferencial de estos genes que participan en la vía serotoninérgica con respecto a pacientes con TDM. Para ello se compararon los perfiles de expresión génica de SLC6A4 (gen codificante de SERT), HTR1A (gen codificante de HTR1A) y S100A10 (gen codificante de P11), previamente asociados a depresión(14,16,20,21), en PBMC de pilotos aviadores, pacientes con TDM y sujetos control.

El primer capítulo es la presente introducción, en el segundo capítulo de la tesis se exponen los antecedentes, se tratan primero las generalidades sobre el trastorno depresivo mayor, su diagnóstico, impacto económico y social, los principales factores de riesgo, abordando los aspectos que se conocen sobre las bases biológicas y moleculares,

posteriormente se habla sobre la salud mental en los pilotos aviadores, desde la frecuencia reportada, estadísticas de seguridad en el medio aéreo, hasta la parte normativa describiendo brevemente las medidas de prevención que se aplican en México, para finalizar el capítulo se describe la búsqueda de biomarcadores para el diagnóstico del TDM. El tercer capítulo, se trata del planteamiento del problema, incluye la justificación, la pregunta de investigación, hipótesis y objetivos del estudio. En el cuarto capítulo, se describe la metodología, desde el diseño del estudio, la captación de participantes, la evaluación clínica y la molecular. Los resultados son descritos en el capítulo cinco y la discusión en el sexto. Al final se pueden leer las conclusiones, los anexos, la bibliografía y una breve Vita.

CAPÍTULO II. ANTECEDENTES

II. A. TRASTORNO DEPRESIVO MAYOR

II. A. 1. Conceptualización

El trastorno depresivo puede considerarse como un conjunto de cuadros clínicos que se caracterizan por una alteración del estado de ánimo, éste término se usa de forma global, para agrupar cuadros con diferente gravedad y origen (22).

En el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales 5ta edición (DSM-5, del inglés Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5ed), el término depresión se utiliza para referirse a cualquiera de los siguientes trastornos del ánimo(23):

- Trastorno depresivo mayor (TDM)
- Trastorno depresivo persistente (distimia)
- Trastorno disfórico premenstrual
- Trastorno depresivo inducido por sustancias
- Trastorno depresivo debido a afección médica
- Otros trastornos depresivos especificados y los no especificados.

La categorización de los trastornos depresivos es compleja, pues el cuadro clínico es muy heterogéneo con subdivisiones poco claras (24), si bien se conoce que los trastornos depresivos se acompañan de cambios en los mediadores solubles del sistema nervioso (21), endócrino (25) e inmunológico (26), aún no se han dilucidado por completo los mecanismos biológicos y moleculares subyacentes que podrían ayudar en la clasificación (22).

En general, podemos decir que el trastorno depresivo abarca las esferas psíquica, somática y conductual (27) y se caracteriza por la presencia de tres síntomas típicos: ánimo depresivo, anhedonia y aumento de la fatigabilidad (28), que debido a las implicaciones físicas, psicosociales y económicas, se ha llegado a definir como “el cáncer del siglo XXI” (29).

II. A. 2. Criterios diagnósticos para el TDM

El diagnóstico de TDM requiere de un período de al menos 2 semanas consecutivas en el que la persona manifiesta un mínimo de 5 síntomas de los cuales al menos uno tiene que ser estado de ánimo depresivo y/o anhedonia (**Tabla 1**) (23).

Tabla 1. Criterios diagnósticos del DSM-5 para TDM

A. Cinco (o más) de los síntomas siguientes han estado presentes durante el mismo período de dos semanas y representan un cambio de funcionamiento previo; al menos uno de los síntomas es (1) o (2).

(1) Estado de ánimo deprimido la mayor parte del día, casi todos los días, según se desprende de la información subjetiva o de la observación por parte de otras personas.

(2) Disminución importante del interés o el placer por todas o casi todas las actividades la mayor parte del día, casi todos los días (como se desprende de la información subjetiva o de la observación).

(3) Pérdida importante de peso sin hacer dieta o aumento de peso, o disminución del apetito.

(4) Insomnio o hipersomnia casi todos los días.

(5) Agitación o retraso psicomotor casi todos los días.

(6) Fatiga o pérdida de energía casi todos los días.

(7) Sentimiento de inutilidad o culpabilidad excesiva o inapropiada (que puede ser delirante) casi todos los días (no simplemente el autorreproche o culpa por estar enfermo).

(8) Disminución de la capacidad para pensar o concentrarse, o para tomar decisiones, casi todos los días (a partir de la información subjetiva o de la observación por parte de otras personas).

(9) Pensamientos de muerte recurrentes (no solo miedo a morir), ideas suicidas recurrentes sin un plan determinado, intento de suicidio o un plan específico para llevarlo a cabo.

B. Los síntomas causan malestar clínicamente significativo o deterioro en lo social, laboral u otras áreas importantes del funcionamiento.

C. El episodio no se puede atribuir a los efectos fisiológicos de una sustancia o de otra afección médica.

D. El episodio de depresión mayor no se explica mejor por un trastorno esquizoafectivo, esquizofrenia, trastorno esquizofreniforme, trastorno delirante, u otro trastorno especificado o no especificado del espectro de la esquizofrenia y otros trastornos psicóticos.

E. Nunca ha habido un episodio maníaco o hipomaníaco.

Fuente: American Psychiatric Association. DSM-5. Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales. 5°. Panamericana; 2014.

La Clasificación Internacional de Enfermedades 10.^a revisión (CIE-10) y el DSM-5 ofrecen un conjunto de criterios para orientar el juicio clínico, pero debe recalcarse que la entrevista clínica es el estándar de oro en el diagnóstico de la depresión. Los médicos psiquiatras se fundamentan en su experiencia clínica y en el apoyo de escalas clinimétricas con diferente grado de estructuración como instrumentos de medida de la gravedad de la depresión y de su respuesta al tratamiento.

En los últimos años, diversos autores concuerdan en que las escalas clinimétricas utilizadas para el seguimiento clínico de los pacientes con TDM son insuficientes para establecer una correlación con la condición fisiopatológica del paciente (30), indicando que existen limitaciones del enfoque operacional y esta incertidumbre posiblemente introduzca una varianza de interpretación en la aplicación de los criterios del DSM-5 para la depresión mayor que puede reducir la fiabilidad de ese diagnóstico ($\kappa = 0,20 - 0,35$ en los estudios de campo para el DSM-5) (8). Esta limitación se ve reflejada en el problema que nos concierne en cuanto al subdiagnóstico de depresión en pilotos aviadores.

II. A. 3. Impacto social y económico

La Organización Mundial de la Salud ha reconocido que esta enfermedad es una crisis mundial de salud (31), actualmente se estima que 350 millones de personas padecen depresión (32), con una prevalencia mundial a lo largo de la vida del 8 al 12% (6). En México, se ha reportado una prevalencia de 7.2% a lo largo de la vida (**Tabla 2**) (33), mientras que la prevalencia en el último año se estima en 4.5% “[Intervalo de Confianza de 95% (IC 95%) = 4.1 - 4.9] (34). A nivel mundial se ha observado que la carga de depresión es 50% mayor en mujeres que en hombres (35), en México el porcentaje de mujeres con depresión es de 5.8% (IC 95%= 5.2 - 6.5) contra el 2.5% en hombres (IC 95%= 2.2 - 3.0), diferencia que se mantiene al estratificar por grupos de edad (33).

Este padecimiento genera pérdidas económicas significativas, ya que afecta a una población económicamente productiva y genera altos costos para las instituciones de salud, los pacientes e incluso sus empleadores (36). El trastorno depresivo fue la segunda causa de años de vida ajustados por discapacidad (AVAD) en el 2010, representando el 8.2% (5.9%–10.8%) de AVAD global (37) y se calcula que para el 2030 será la primera causa de la carga mundial de morbilidad (32).

Tabla 2. Prevalencia del trastorno depresivo a lo largo de la vida por grupo de edad, en México.

	n	Total			18-29 años		30-44 años		45-54 años		>55 años		Valor de p
		%	D.E.	%	D.E.	%	D.E.	%	D.E.	%	D.E.		
TDM	484	7.2	0.5	5.7	0.7	7.4	0.7	9	1.1	9.6	1.4	0.005	

TDM: trastorno depresivo mayor; D.E.: desviación estándar.

II. A. 4. Factores de riesgo

En la etiología de la depresión están involucrados varios factores de riesgo, entre los que se encuentran los biológicos, que incluyen aspectos genéticos, epigenéticos, bioquímicos y los factores de riesgo psicosociales (38–40). Como cualquier otra enfermedad multifactorial, existe evidencia de que los diferentes factores de riesgo interactúan y contribuyen al desarrollo de la depresión.

II. A. 4. a. Factores de riesgo psicosociales

Hasta la fecha se sabe poco acerca de los factores de riesgo psicosociales para el desarrollo del trastorno depresivo (41). Está documentado que la exposición a eventos estresantes de la vida se asocia con el desarrollo subsecuente de episodios depresivos y que mientras más grave o importante sea el evento, mayor será el riesgo de presentar un primer episodio; por otro lado, los estresores que permanecen durante muchos meses, se asocian con el aumento de la gravedad del cuadro depresivo, una mayor recurrencia o un mayor número de recaídas (42).

II. A. 4. a. i. Estrés laboral

Existe evidencia de que la percepción de factores adversos en el trabajo se relaciona con un riesgo elevado de desarrollar síntomas depresivos (36). Se puede definir el estrés laboral como una combinación de altas demandas/bajo poder de decisión (42) y altas demandas/ poca recompensa (43).

De acuerdo con diversos estudios que se han realizado sobre estrés laboral (36,41–43), la prevalencia de depresión en trabajadores va de 2.5 hasta 33%, esta variación puede deberse a que en la mayoría de los estudios se incluyeron cuadros subclínicos que presentaban síntomas depresivos (41,42), sin embargo, los riesgos estimados son bastante consistentes entre los estudios, que señalan al estrés laboral como un factor de riesgo moderado para el desarrollo de síntomas depresivos, con un riesgo relativo menor a dos (42), con una estimación resumida de 1.8 (43), sin diferir entre mujeres y hombres (42,43), a pesar de que estudios recientes indican que las mujeres tienen niveles más altos de estrés

laboral (36). Las altas demandas psicológicas en el trabajo incrementan el riesgo para desarrollar ansiedad [Razón de Momios (RM)= 2.12; IC 95%= 1.35–3.31] y depresión (RM= 2.26; IC 95%= 1.28–4.01), mientras que el poco apoyo social se relaciona con ansiedad (RM= 1.54; IC 95%= 1.06–2.23) y la inseguridad laboral con el desarrollo de depresión (RM= 1.98; IC 95%= 1.25–3.13), independientemente de las variables confusoras (41).

Existen muy pocos estudios de estrés laboral en el personal aéreo; podemos citar el realizado en Jakarta durante una evaluación de rutina, en el que se realizó una entrevista a 109 pilotos, sobre factores de estrés, tales como condiciones de trabajo, condiciones físicas del entorno de trabajo, desarrollo profesional, relaciones organizacionales e interpersonales, aplicando el Inventario de Síntomas de 90 Reactivos (SCL 90R, del inglés Symptom Checklist 90 ítems), los autores encontraron una prevalencia de trastornos mentales y emocionales del 39.4%, los cuales se relacionaron significativamente con los factores de estrés laboral [riesgo relativo ajustado (RRa)= 4.64; IC 95%= 1.01 – 19.65] y moderadamente con la tensión en el hogar (P= 0.184) (1) . Mientras que, otro estudio analizó de forma retrospectiva las órdenes de referencia a la clínica de la salud mental en el centro de entrenamiento de la aviación del ejército de los Estados Unidos en Fort Rucker, observando que de 99 casos de pilotos estudiantes referidos por alteraciones en la adaptación al trabajo, se encontraron como causas ansiedad (26%), conflicto matrimonial (22%), somatización (15%), depresión (13%), reacciones fóbicas (12%) y mala conducta (11%) (44).

II. A. 4. b. Factores de riesgo biológicos

Dentro de los factores de riesgo biológicos encontramos una compleja red de interacciones a diferentes niveles, como el genético, neurológico, hormonal e inmunológico. Si bien, el desarrollo del trastorno depresivo en sus diferentes variantes no puede atribuirse únicamente a un factor, la suma de ellos, más la interacción con los factores no biológicos precipitan o prolongan la enfermedad, además de condicionar la respuesta al tratamiento.

II. A. 4. b. i. Factores genéticos

A pesar de la gran relevancia médica y social que significan los trastornos depresivos, aún no se han clarificado por completo los mecanismos que propician el desarrollo del trastorno depresivo. Se han sugerido diversas teorías para explicar el inicio de la depresión de acuerdo a diversos hallazgos biológicos reportados en poblaciones de pacientes con TDM(45). De forma generalizada, se ha establecido que el trastorno depresivo mayor es una enfermedad multifactorial que presenta una intrincada interacción entre factores biológicos, sociales y psicológicos(46). Entre los factores biológicos con un impacto ampliamente reconocido se encuentran los componentes genéticos, de hecho, diversos factores de vulnerabilidad han sido asociados con el incremento en el riesgo a padecer TDM(47).

Diversas aproximaciones han sido utilizadas para esclarecer la relación entre el trastorno depresivo mayor y los genes involucrados en su desarrollo; estas incluyen estudios de herencia en familias y gemelos, de genes candidatos, de asociación de genoma completo (GWAS, del inglés Genome Wide Association Studies) y de secuenciación del genoma completo.

Los estudios en familias y gemelos indican que existe un riesgo de 2 a 3 veces mayor de desarrollar TDM en familiares de primer grado(48), además de un riesgo de heredabilidad estimado en 37% (IC 95%: 31%–42%) (49), lo que demuestra la fuerte contribución de los factores genéticos en el desarrollo del proceso patológico en el TDM(45–47,50). Por otro lado, los trabajos enfocados en identificar y determinar el papel de diversos genes candidatos se han enfocado en analizar los polimorfismos relacionados con los mecanismos fisiopatológicos que sustentan las diversas hipótesis sobre la depresión o que están involucrados en los mecanismos de acción de los tratamientos farmacológicos (46). Las principales hipótesis de la depresión se enfocan en el sistema de neurotransmisión, el eje HHA, el efecto del factor neurotrófico derivado de cerebro (BNDF, del inglés Brain-derived Neurotrophic Factor) y la hipótesis inmunológica de la depresión (46).

El estudio de genes candidatos para el desarrollo de TDM ha sido un campo ampliamente explorado, en el que se han evaluado cerca de 200 genes para determinar su participación en el inicio de la depresión o su sintomatología (45,50). Entre las investigaciones más ampliamente reportadas, se encuentran las que involucran genes relacionados a la hipótesis monoaminérgica, la cual propone que una neurotransmisión

monoaminérgica (serotonina, norepinefrina y dopamina) insuficiente en estructuras cerebrales definidas en el sistema nervioso central son las causantes del desarrollo de la depresión (45). Dichas investigaciones incluyen el gen que codifica para el transportador de serotonina (*SLC6A4* del inglés Solute Carrier Family 6 Member 4; Transportador de solutos de la familia 6, miembro 4), genes que codifican para receptores de serotonina (*HTR1A*, *HTR2A*, *HTR1B*, *HTR2C*, del inglés 5-hydroxytryptamine receptor 1A, 2A, 1B, 2C; subtipos 1A, 2A, 1B, 2C del receptor de 5-hidroxitriptamina), receptores de dopamina (*DRD3*, *DRD4*, del inglés Dopamine Receptor D3, D4) o para enzimas relacionadas con el metabolismo (*MAOA*, Monoamino oxidasa A. *COMT*, catecol O-metiltransferasa)(46). Diversos meta-análisis han arrojado resultados controversiales sobre la participación de los genes evaluados (46,50). Otros genes que han reportado una asociación positiva en diversos meta-análisis incluyen a los genes que codifican para la apolipoproteína E (*APOE*), la proteína Piiccolo de Citomatrix presináptica (*PCLC*, del inglés Piccolo Presynaptic Cytomatrix Protein), la subunidad de receptor de importación mitocondrial (*TOMM40*, del inglés Translocase Of Outer Mitochondrial Membrane 40; Translocasa de la membrana mitocondrial externa 40), la proteína nucleotídica de unión a proteínas G subunidad beta-3 (*GNB3*, del inglés G protein subunit beta 3) y la metil-tetrahidrofolato-reductasa (*MTHFR*) (50). La dificultad para identificar una asociación genética clara con los mecanismos que generan el TDM ponen de manifiesto la complejidad biológica de este padecimiento y se ha estipulado que la acción coordinada de múltiples genes, sus interacciones e interconexiones junto con la aparición de factores ambientales son los desencadenantes de la aparición del TDM (45).

El desarrollo de la tecnología de los microchips de ADN ha permitido realizar estudios de GWAS para identificar los factores de riesgo para el inicio del TDM, independientemente de la hipótesis sobre la patogénesis que se evalúe, tienen la ventaja de que pueden incluir miles de pacientes con diversas presentaciones de la depresión, para identificar los diferentes perfiles genéticos asociados con el inicio de la depresión (45). En general los GWAS se realizan en dos fases generales: una fase de descubrimiento en la que se analiza el genoma completo y una fase de replicación, donde se analiza de forma independiente un grupo de polimorfismos, SNPs (del inglés Single nucleotide polymorphisms, Polimorfismos de un solo nucleótido) o CNVs (del inglés Copy number variations, Variaciones en el número de copias de ADN). Los resultados pueden presentarse ya sea de forma individual para cada una de las fases o de manera combinada en forma de meta-análisis (50). A diferencia de los estudios con genes candidatos, los

GWAS no requieren el conocimiento previo de los genes a analizar; utilizan variantes con frecuencias alélicas mayores a 5%, considerando a la frecuencia del alelo menos común como base para la correlación entre ellos (46,50). Este patrón de correlación no es aleatorio, ya que la recombinación no ocurre de manera uniforme en el genoma, por el contrario, se encuentra de forma localizada en “sitios calientes”, lo que genera bloques que presentan un desequilibrio de ligamiento, como consecuencia de ello, la genotipificación de GWAS se realiza solo en los loci que contienen la mayoría de las variantes en el genoma evaluado y si alguna de las variantes no correlaciona con ninguno de los marcadores evaluados, es decir no se encuentran en los loci más frecuentes, esta podría no ser detectada (50). Los estudios de GWAS han revelado que el TDM involucra a varios cientos de genes, sin que se haya detectado que un determinado grupo de genes tenga un papel principal en este padecimiento (46), tampoco los meta-análisis, que incluyen a cientos de miles de pacientes, han identificado ningún locus específico como responsable de la predisposición del TDM (45,50). Estos resultados ponen de manifiesto que el TDM es multifactorial y que la predisposición a los trastornos depresivos, está probablemente determinada por la acción coordinada de muchos genes, su interacción entre ellos y la interacción con diversos factores ambientales.

II. A. 4. b. ii. Factores neuroendocrinoimmunológicos

El estrés, desde el punto de vista biológico, es cualquier cambio en el ambiente, interno o externo, que altera la homeostasis (51), cabe aclarar que no sólo se trata de estímulos periféricos como las infecciones o lesiones, sino que también consisten en señales neurosensoriales, como el estrés psicosensores (52). En la regulación de la homeostasis de un organismo, la estrecha comunicación que existe entre los diversos sistemas que lo componen, permite una respuesta adecuada ante los estímulos (51), la respuesta al estrés protege al individuo del daño y por otro lado, la adaptación es la respuesta aprendida para ajustarse a futuras situaciones adversas (53).

Las Interacciones Neuroendocrinoimmunológicas (INEI), modulan una respuesta coordinada ante un estímulo estresante del entorno o la regulación del comportamiento de un organismo en respuesta a una alteración fisiológica (Fig. 1) (51,54–56).

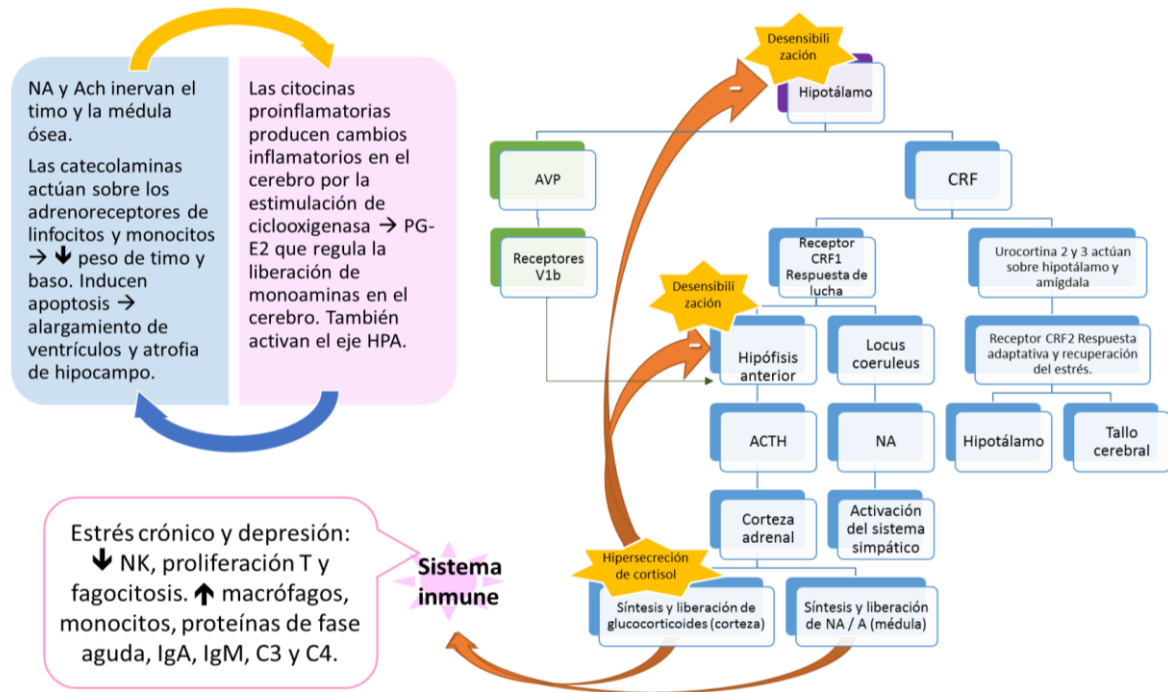


Fig. 1. Cascada de eventos activada por el estrés agudo y crónico. NA= noradrenalina; A= adrenalina; Ach= Acetilcolina; PG-E2= prostaglandina E2; HPA= Hipotálamo Hipófisis Adrenal; NK= del inglés natural killer, célula asesina natural; IgA = inmunoglobulina A; IgM= inmunoglobulina M; C3= complemento 3; C4= complemento 4; AVP= arginina vasopresina; CRF= del inglés corticotropin releasing hormone, factor liberador de corticotropina; CRF1= del inglés Corticotropin-releasing hormone receptor 1, receptor 1 de factor liberador de corticotropina; CRF2= del inglés Corticotropin-releasing hormone receptor 2, receptor 2 de factor liberador de corticotropina; ACTH= del inglés Adrenocorticotropin hormone, hormona adrenocorticotropa. Tomado de: Olvera Alvarez y cols. Expresión génica de SLC6A4, HTR1A y S100A10 en linfocitos de sangre periférica: un potencial biomarcador de depresión y nueva herramienta para incrementar la seguridad aérea. En: Pavón Romero y cols. Nuevos enfoques en el estudio de las Interacciones Neuroinmunoendrinológicas. Universidad de Guadalajara, México 2018 (57).

El fundamento biológico de la correlación entre estrés laboral y depresión tiene que ver con los mecanismos neuroendocrinoinmunológicos de respuesta sistémica al estrés, para explicarlo mejor es conveniente abordar las INEI (57).

Estas INEI ocurren en varias direcciones, se ha descrito que las células del sistema inmunológico expresan receptores para hormonas, neurotransmisores y neuropéptidos que afectan los procesos inmunológicos, mientras que, en la dirección opuesta, los productos de las células del sistema inmunológico, como las citocinas, ejercen efectos sobre las funciones cerebrales (p.ej. liberación de CRH en neuronas estimulado por interleucina 1 (IL-1)) (52), algunas citocinas como IL-1 e interleucina 6 (IL-6) son producidas por células gliales y otras neuronas y tienen la capacidad de afectar la plasticidad de la sinapsis, al ser mediadores de las interacciones entre los astrocitos y las neuronas pre y post sinápticas, lo

que se conoce como sinapsis tripartita, que se ha propuesto como un sistema de retransmisión de la comunicación entre el sistema nervioso central y el inmunológico (58).

Las células de un organismo detectan los estímulos estresantes externos o del propio ambiente celular, envían dicha información al cerebro y éste se encarga de coordinar la respuesta fisiológica, esto es particularmente importante en el sistema inmunológico, ya que actúa como un órgano sensorial enviando información al cerebro acerca del tipo de proceso inmunológico que se encuentra en curso, el sistema nervioso central (SNC) a su vez, dispara las respuestas neuroendocrinas regulatorias (52).

Entre los diversos procesos regulados por las INEI, uno de los más estudiados es la respuesta inflamatoria periférica mediante la vía neural y la vía humoral (56). En la vía neural los estímulos inmunológicos activan las vías aferentes vagales de forma directa mediante citocinas, o indirecta por la interacción de células quimio-receptoras asociadas al paraganglio vagal (59). En cuanto a la vía humoral, los estímulos estresantes favorecen la producción de diversas citocinas pro-inflamatorias durante la activación de la sinapsis tripartita. Los efectos de dichas citocinas sobre las funciones cerebrales y sobre la inmunoregulación neuroendócrina depende mucho de dónde, cuándo y cómo ocurrió el estímulo (52).

Las citocinas regulan la transmisión de la señal hacia el cerebro, cruzando la barrera hematoencefálica mediante un transportador saturable dependiente de la concentración de citocinas (60) a su vez proporcional a la intensidad del reto inmunológico, lesión o estrés psicológico al que está expuesto un individuo (58); la comunicación entre las citocinas y el cerebro también puede llevarse a cabo en los sitios circunventriculares que carecen de barrera hematoencefálica (61) y a través de receptores ubicados en la superficie del endotelio vascular en el cerebro (56,58).

La respuesta inflamatoria a nivel cerebral induce efectos neuroquímicos como la secreción de neurotransmisores, neuroendócrinos con la activación del eje HHA (hipotálamo-hipófisis-adrenal), HHG (hipotálamo-hipófisis-gonadal) e HHT (hipotálamo-hipófisis-tiroideo) e inmunológicos con la activación de los astrocitos y la microglia para la secreción de citocinas pro-inflamatorias, quimioquinas y especies reactivas de oxígeno, estos cambios se asocian con la modificación de la conducta y de la percepción (56).

Enfocándonos en el eje HHA, tras su activación por las citocinas proinflamatorias durante el estrés, ocurre la secreción de CRF (factor liberador de corticotropina) a nivel

hipotalámico, que induce la síntesis y liberación de ACTH (hormona adrenocorticotrópica) a nivel de hipófisis anterior y por consiguiente se estimula la corteza adrenal dando por consecuencia un aumento en los niveles de cortisol que propicia la reacción de “fuga o lucha”, en el estrés agudo los glucocorticoides inician una retroalimentación negativa para volver al estado basal, por medio de diversos mecanismos que incluyen la estimulación de los receptores mineralocorticoides a nivel central, la activación de la síntesis de citocinas antiinflamatorias como interleucina 4 (IL-4) e interleucina 10 (IL-10) y la supresión de factores nucleares como factor nuclear kappa B (NF- κ B) que regulan la síntesis de citocinas como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1b (IL-1 β), interleucina 8 (IL-8) e interferón gamma (IFN- γ), asimismo, inhiben la proliferación de las células mediadoras de la respuesta inmunológica y la expresión de moléculas de adhesión (56,60).

Cuando el estrés es crónico, ocurre el llamado síndrome de adaptación, como resultado de la hipersecreción de glucocorticoides, la desensibilización de los receptores mineralocorticoides, la activación continua del sistema simpático adrenal y de forma general, una hipersensibilidad del eje HHA al estrés (51,61).

Se conocen algunos mecanismos que maximizan la capacidad de respuesta del eje HHA a diferentes niveles, a nivel celular ocurre un aumento de la producción de CRH y AVP (arginina vasopresina) por las neuronas del núcleo paraventricular hipotalámico y reorganización de la expresión de los receptores de los neurotransmisores; a nivel de sinapsis mejora la excitabilidad celular y se reduce el tono inhibitorio y por último a nivel estructural, aumenta la densidad de las terminales glutamatérgicas y noradrenérgicas/adrenérgicas en las neuronas CRH para favorecer la inervación excitatoria (62). Además, se eleva la circulación periférica de citocinas anti-inflamatorias como interleucina 13 (IL-13), interleucina 4 (IL-4) e interleucina 5 (IL-5) con el fin de generar una regulación inmunológica entre citocinas pro y anti-inflamatorias (56).

Estos mecanismos compensatorios pueden considerarse como componentes de la "carga alostática" o adaptación a través del cambio que mantiene el sistema equilibrado en caso necesario. Sin embargo, el estrés crónico puede superar dicha capacidad adaptativa, más aún, si el individuo no se encuentra en un contexto adecuado, aumentando el riesgo de presentar enfermedades relacionadas con el estrés (62), como diabetes, acumulación de grasa abdominal, hipertensión, aumento del estado pro-inflamatorio y cambios psicológicos como ansiedad, depresión, entre otros (51,61).

II. A. 4. b. iii. El papel de la inflamación en la depresión

Amplia cantidad de evidencia ha permitido documentar la capacidad de las citocinas proinflamatorias para generar efectos conductuales que en su conjunto se denominan como *sickness behavior* (56,63,64). El *sickness behavior* se observa en animales de laboratorio que padecen infecciones y en los que presentan síntomas similares a los observados en el TDM, como lo son la anhedonia, fatiga, enlentecimiento psicomotor, disminución del apetito, alteraciones en el patrón de sueño e incremento en la sensibilidad del dolor. Estos síntomas pueden ser inducidos por la administración individual o conjunta de citocinas proinflamatorias, por la administración de mitógenos o por la presencia de agentes infecciosos en modelos animales de depresión (65–67).

Las similitudes entre los efectos del *sickness behavior* y los síntomas del trastorno depresivo han permitido establecer una hipótesis sobre la participación del sistema inmunológico en la fisiopatología de la depresión. La contribución de una respuesta inmune activada en la fisiopatología del trastorno depresivo fue propuesta como la teoría macrófaga de la depresión, la cual propone que la secreción de algunas citocinas como IL-1 β y TNF α puede generar en algunos casos el trastorno depresivo (68).

Entre los diversos hallazgos que apoyan la teoría inflamatoria del TDM, se encuentran el incremento en los niveles de citocinas pro-inflamatorias, linfocitos T cooperadores tipo 1 (Th1, del inglés T helper 1), proteína C reactiva, haptoglobina, anticuerpos anti-colesterol-lipoproteínas de baja densidad (LDL, del inglés low density lipoproteins) oxidado, fosfolípidos oxidados y bajos niveles de antioxidantes, incluido el glutatión, la vitamina E y la coenzima Q (69,70). Otras vías relacionadas con la inflamación y la activación de la respuesta inmune celular incluyen el incremento del estrés oxidativo y nitrosativo, que en parte pueden ser consecuencia de la elevación de las citocinas pro-inflamatorias, y que a su vez, puede causar una peroxidación lipídica, daño al ADN y una desregulación de la respuesta inmune (63,69).

II. A. 4. b. iv. Alteración de las monoaminas

Aunado a la teoría inflamatoria del *sickness behavior*, las manifestaciones clínicas del trastorno depresivo se han asociado primordialmente a un defecto en el funcionamiento de los neurotransmisores (71). Los sistemas de serotonina (5HT, 5-hidroxitriptamina), norepinefrina (NE) y dopamina (DA) se originan en el tronco encefálico y se proyectan hacia diferentes regiones cerebrales, donde sus acciones son mediadas por sus transportadores y receptores afines, dando lugar a la aparición de los diferentes síntomas de depresión (72).

Durante el estrés agudo se estimula la enzima triptófano hidroxilasa que cataliza la conversión de triptófano a serotonina, que a su vez activa las células del núcleo paraventricular para la liberación de CFR y modula la liberación de AVP que actúa sobre los receptores V1b de la hipófisis anterior para liberar ACTH (51).

De forma opuesta, durante el estrés crónico, la elevación de los glucocorticoides adrenales activa a la enzima triptófano 2-3 dioxigenasa (TDO) que cataliza la oxidación de triptófano a N-formilquinurenina. De acuerdo con la hipótesis neurodegenerativa de la depresión, existe evidencia de que los productos finales de la vía de las quinureninas son neurotóxicos y generan cambios estructurales como la reducción del tamaño del hipocampo, la disminución del número de astrocitos y la pérdida neuronal de la corteza frontal y del estriado, estos cambios a su vez, se encuentran relacionados con el inicio del trastorno de depresión (**Fig. 2**) (51,64).

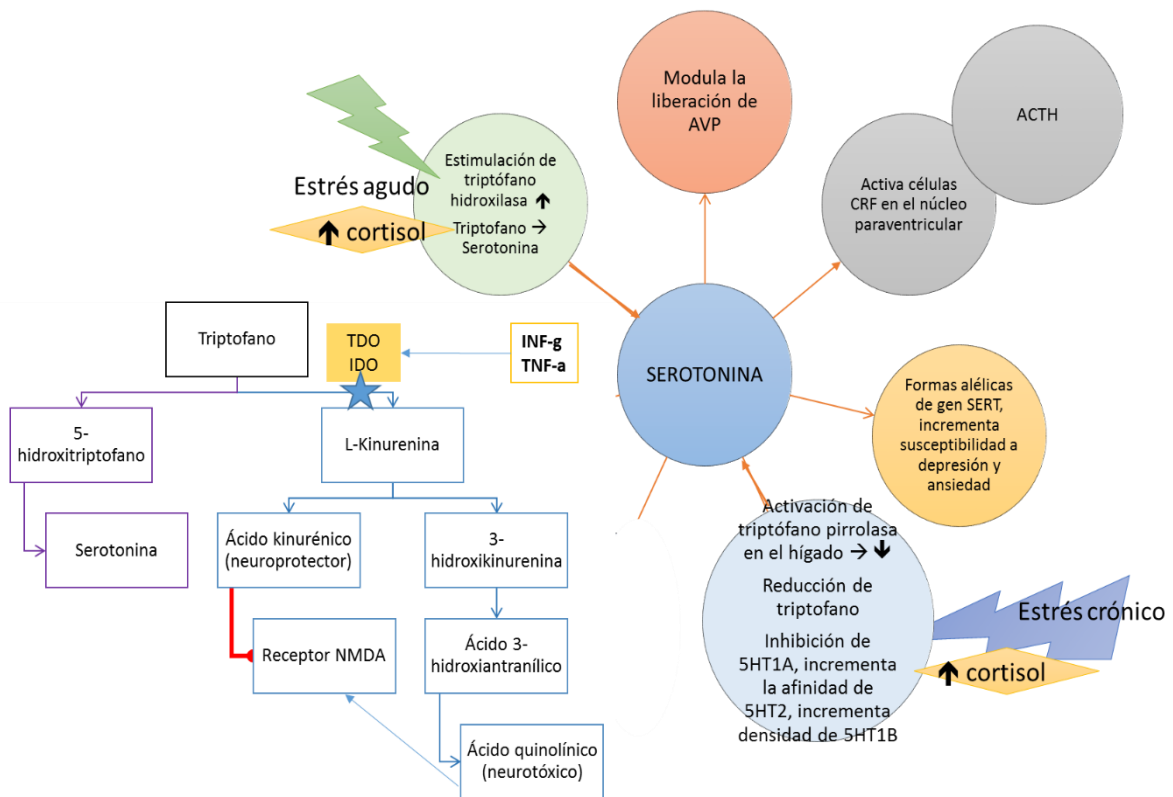


Fig. 2. Estrés y sistema serotoninérgico. TDO: triptófano 2-3 dioxigenasa o triptófano pirrolasa; IDO: indolamina 2-3 dioxigenasa; NMDA: Del inglés, N-methyl-D-aspartate receptor, Receptor de N-metil-D-aspartato; IFN- γ : Interferon gamma; TNF- α : Del inglés Tumor necrosis factor-alpha, Factor de necrosis tumoral alfa; AVP: Arginina vasopresina; ACTH: Del inglés Adrenocorticotropin hormone, hormona adrenocorticotropa; CRF: Del inglés corticotropin releasing hormone, factor liberador de corticotropina; SERT: Del inglés, serotonin transporter, transportador de serotonina; 5-HT1A: Del inglés 5-Hydroxytryptamine Receptor 1A. Receptor 1A de 5-hidroxitriptamina; 5-HT2: Del inglés 5-Hydroxytryptamine Receptor 2. Receptor 2 de 5-hidroxitriptamina; 5-HT1B: Del inglés 5-Hydroxytryptamine Receptor 1B. Receptor 1B de 5-hidroxitriptamina. Tomado de: Olvera Alvarez y cols. Expresión génica de SLC6A4, HTR1A y S100A10 en linfocitos de sangre periférica: un potencial biomarcador de depresión y nueva herramienta para incrementar la seguridad aérea. En: Pavón Romero y cols. Nuevos enfoques en el estudio de las Interacciones Neuroinmunoendrinológicas. Universidad de Guadalajara, México 2018 (57).

II. A. 5. Bases biológicas de la resiliencia.

La inflamación aún de baja intensidad y la activación de la respuesta inmune celular pueden traducirse en neuroinflamación y en la activación de la microglia, con cambios en el comportamiento en algunos individuos (64,73), mientras que otros no desarrollan dichos cambios, esto se explica por la resiliencia al estrés, que se refiere a la capacidad de los individuos para mantener niveles normales de funcionamiento psicológico, biológico y social tras un evento traumático (74), la resiliencia no es simplemente la ausencia de una respuesta patológica al estrés, sino que involucra un proceso de alostasis, que se define

como un proceso activo por el cual el organismo responde a los eventos diarios para mantener la homeostasis (74,75).

Poco se sabe acerca de las causas exactas por las que ciertas personas son resilientes al estrés, se ha hipotetizado su relación con factores biológicos como la carga genética, la plasticidad cerebral (hipocampo, amígdala y corteza prefrontal) (75), la producción de moléculas de protección contra el estrés oxidativo (en la corteza prefrontal ventromedial y el núcleo accumbens) (74), así como con factores psicosociales como son las estrategias adecuadas en el cuidado de la salud, la red de apoyo social, los rasgos de personalidad, las estrategias de afrontamiento y una baja carga alostérica (76).

II. A. 6. Una visión integrada del Trastorno Depresivo Mayor

La alostasis crónicamente desregulada puede conducir a la enfermedad. Se denomina "carga o sobrecarga alostática" al desgaste que resulta de un exceso de estrés o de un manejo ineficiente de la alostasis e incluye aquellos cambios en el comportamiento, tales como problemas del sueño, del apetito, adicciones, etc. (75).

El modelo de diátesis-estrés proporciona una base neurobiológica que conecta al estrés con el trastorno depresivo, esta teoría explica que en las personas vulnerables existe cierta predisposición a una respuesta negativa al estrés, dicha predisposición puede ser psicológica o biológica y dentro de esta última, el estrés crónico o desde la vida temprana puede condicionar una desregulación continua del eje HHA con hipersensibilidad al estrés, lo que más que generar los síntomas específicos de la depresión, predispondría a que una ruptura de la diátesis biológica, por un estresor agudo, dispare la cascada de eventos expuestos anteriormente que conducirán finalmente al desarrollo de la depresión (53).

En resumen, el mantenimiento de una respuesta inmune activada y alterada debida a estrés crónico, en individuos vulnerables con una mala adaptación a dicha respuesta, puede generar un episodio depresivo e incluso un trastorno depresivo (77). El estrés ha sido asociado con un perfil pro-inflamatorio que ocurre frecuentemente en asociación con el TDM, lo que exacerba la desregulación inmunológica (78–80).

II. B. EVALUACIÓN DE LA SALUD MENTAL EN PILOTOS AVIADORES

II. B. 1. Problemas de salud mental en pilotos aviadores

Poco es lo que se conoce acerca de la prevalencia de depresión y otros trastornos mentales en pilotos.

De la literatura disponible podemos rescatar algunos ejemplos: Durante la examinación médica periódica que se les practica a los pilotos aviadores en Australia, sólo el 1% refiere estar tomando antidepresivos, dicho porcentaje es mucho menor que el de la población general, sugiriendo que está subreportado (81), esta situación se observa también en lo que coincide con la situación de Gran Bretaña, donde se estima que los problemas psiquiátricos representan el 41% y 67% de las condiciones médicamente inadecuadas durante los exámenes psicomédicos, para pilotos de la Fuerza Aérea y el 67% para pilotos de líneas comerciales respectivamente, corresponden a problemas psiquiátricos, mientras que únicamente se atribuye el 13,4% en los reportes de las compañías de seguros (44).

Aunque la prevalencia de depresión en los pilotos aéreos se desconoce, se sabe del uso de antidepresivos por los mismos. Por otro lado, de acuerdo con la Junta Nacional de Seguridad del Transporte (NTSB, del inglés National Transportation Safety Board), el uso de inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) con o sin el uso de otras sustancias, es un factor contribuyente en al menos 9 de 61 accidentes (82). Aunado a lo anterior, el estudio de la base de datos del Instituto Médico Aeroespacial Civil (CAMI, del inglés Civil Aerospace Medical Institute), que resguarda los análisis realizados de forma posmortem a los pilotos accidentados, reveló que de 4,184 accidentes de aviación fatales ocurridos entre 1990 y 2001, 61 pilotos presentaron residuos de ISRS con concentraciones que iban desde niveles subterapéuticos a niveles tóxicos, reportándose de 11 a 1121 ng/ml para fluoxetina, de 47 a 13102 ng/ml para sertralina, de 68 a 1441 ng/ml para paroxetina y de 314 a 462 ng/ml para citalopram (82); de los 61 pilotos mencionados, 7 (12%) reportaron tener depresión en los exámenes médicos, 3 de ellos con tratamiento farmacológico y 6 de los 7 pilotos refirieron remisión del trastorno depresivo, por lo que fueron certificados, de los 52 pilotos restantes que negaron enfermedades, 12 (20%) tenían un historial de

psicopatología y/o uso de ISRS como se evidenció en el análisis posmortem, dando mayor soporte a la hipótesis de que el trastorno depresivo se encuentra subdiagnosticado en esta población (83).

Por otro lado, en diversos estudios psicofisiológicos se ha encontrado que los ritmos circadianos, de sueño y descanso/actividad influyen sobre los requerimientos de adaptación conductual y metabólica, esto es importante debido a que la planeación de los vuelos resta tiempo para que el reloj biológico se adapte a la nueva situación, lo que se traduce en fatiga y las consecuencias que conlleva. A once controladores de tráfico aéreo del turno nocturno, se les aplicó el Inventario de Ansiedad de Rasgo de Estado y se realizaron mediciones de cortisol, prolactina y testosterona, arrojando un incremento en la concentración de estos últimos al final de la jornada, en comparación con los valores basales tras ocho horas de sueño (4).

II. B. 2. Situación de seguridad en el transporte aéreo

De acuerdo con el reporte del 2014 de la Organización de Aviación Civil Internacional (OACI), se estiman 3200 millones de usuarios de vuelos comerciales por año y cada día se gestionan más de 100.000 vuelos (84). La aviación se ha vuelto cada vez más importante en la economía de los países y es importante aumentar la eficacia de los procesos y la seguridad para usuarios y personal aéreo.

Actualmente se calcula un índice anual de 3 accidentes por cada millón de partidas (84), en cuanto a las causas, de acuerdo con la Red de Seguridad en Aviación que recopila datos de todo el mundo (Aviation Safety Network, ASN), perteneciente a la Fundación de Seguridad Aérea (Flight Safety Fundation, FSF), la causa principal de accidentes, incluidos los fatales y no fatales, fueron vulnerabilidad en la seguridad (28.13%), fallas en la aeronave (21.5%) y colisiones (10.61%) (Tabla 3) (85).

Tabla 3. Lista de causas contribuyentes de accidentes aéreos fatales y no fatales de acuerdo con la Red de Seguridad en Aviación (ASN)^a

PROBLEMAS DE SEGURIDAD AEREA	CAUSA DE ACCIDENTES	Número de accidentes
AERONAVE	Falla de fuselaje, error de diseño, motores, superficies de vuelo, instrumentos, presurización, sistemas, tren de rodaje	1484
TORRE DE CONTROL Y NAVEGACIÓN	Lenguaje / problemas de comunicación, vuelo VFR en IMC, instrucciones incorrectas o malinterpretadas	149
CARGA	Centro de gravedad incorrecto, avión sobrecargado...	198
COLISIONES	Colisiones en el suelo y en el aire (aeronaves, aves y objetos)	732
FACTOR EXTERNO	Daño por objetos extraños (FOD), vórtice de estela.	166
FUEGO	En Hangar, tierra, vuelo, etc.	277
ATERRIZAJE	Desembarco rápido y pesado, timones/alerones bloqueados, configuración de despegue erróneo, etc.	597
MANTENIMIENTO	Incumplimiento, instalación incorrecta de partes, etc.	79
CLIMA	Formación de hielo, relámpago, tormenta, viento etc.	578
TRIPULACIÓN	Consumo de alcohol / drogas, desorientación, distracción en cabina, falta de monitorización de los instrumentos, incapacitación del piloto durante el vuelo, problemas de comunicación (lenguaje) con torre de control, condiciones mentales, incumplimiento de procedimientos, fatiga, problemas de juicio y error de navegación, personal no calificado	287
SEGURIDAD (1941)	Suicidios de pilotos, copilotos	9
	Ataque suicida	8
	Robo de aeronave con suicidio	2
	Hijack (secuestro)	1074
	Destrucción en tierra	296
	Bomba	87
	Disparo	465
DESCONOCIDO		413
TOTAL		6901

a: ASN del inglés Aviation Safety Network. Fuente: Aviation Safety Network. 1996-2017 Aviation Safety Database [Internet]. 2016. Disponible en: <https://aviation-safety.net>

A pesar de que el suicidio del personal aéreo no es la causa más común de accidentes, contribuyendo con menos del 1% como causa de eventos de seguridad, los 9 eventos fatales reportados hasta la fecha se traducen en 563 decesos (85). El desafortunado evento del vuelo 9525 de Germanwings provocado por el copiloto Andreas Lubitz que cobró la vida de 150 personas, abrió el debate acerca de la existencia de los

trastornos mentales como la depresión en los pilotos aviadores y en las estrategias a implementar para disminuir el riesgo de que este tipo de eventos se presenten, ese mismo año la Agencia de Seguridad Europea de Aviación (EASA) emitió sus recomendaciones, destacando la importancia de las evaluaciones psicológicas y médicas de los pilotos y la necesidad de desarrollar mejores sistemas de diagnóstico (86).

II. B. 3. Subdirección de Certificación Aeromédica y Marítima

II. B. 3. a. Función de la Subdirección de Certificación Aeromédica y Marítima

La Subdirección de Certificación Aeromédica y Marítima (SCAM), depende de la Dirección General de Protección y Medicina Preventiva en el Transporte (DGPMPPT), la cual es una unidad adscrita a la Subsecretaría de Transporte de la Secretaría de Comunicaciones y Transportes (87).

Comparte la misión de la DGPMPPT: *“Prevenir la ocurrencia de accidentes y con ello proporcionar, seguridad y confianza a los usuarios del Transporte Público Federal, mediante la verificación de la integridad psicofísica, por sí o por conducto de terceros autorizados, de quienes intervienen en la conducción, operación y auxilio del transporte en las Vías Generales de Comunicación, servicios auxiliares y conexos”* (87).

Entre las diversas funciones de la SCAM, se encuentra determinar las condiciones psicofísicas que debe presentar el personal técnico aeronáutico, incluidos los pilotos aviadores, a través de la práctica de exámenes psicofísicos integrales, médicos en operación y toxicológicos para coadyuvar en la seguridad de los usuarios del modo de transporte aéreo.

II. B. 3. b. Evaluación de la función mental en el Examen Psicofísico Integral

En México, al igual que en otros países, se realiza una prueba psicofísica a navegantes aéreos para poder otorgar la licencia federal (Tabla 4), tras asegurarse que los operadores se encuentran aptos, es decir, en óptimo estado de salud. En cuanto a la salud mental, el operador no debe presentar historia clínica comprobada o diagnóstico de trastornos afectivos del humor, ni usar psicofármacos por prescripción médica que interfieran o puedan interferir con el desempeño seguro y eficiente de las atribuciones que su Licencia Federal le confiere (88).

Tabla 4. Aspectos que se evalúan en el Examen Psicofísico Integral en México.

El Examen Psicofísico Integral comprenderá lo siguiente:

- I. Historia Clínica;
- II. Examen médico general;
- III. Exploración oftalmológica: agudeza visual, discriminación de color, fondo de ojo y campimetría;
- IV. Exploración audiológica: agudeza auditiva y otoscopia;
- V. Exploración neumológica: inspección, palpación, percusión y auscultación de ambos hemitórax;
- VI. Exploración cardiológica: inspección, palpación, percusión y auscultación del área;
- VII. Exploración neurológica: estado de alerta, reflejos oculares fotomotores y de acomodación, reflejos osteotendinosos, tono muscular y reflejos patológicos, y
- VIII. Valoración y estudio psicológico.

Fuente: Artículo 10. Reglamento del Servicio de Medicina Preventiva en el Transporte SCT(88).

II. C. POTENCIALES BIOMARCADORES PARA EL DIAGNÓSTICO DEL TRASTORNO DEPRESIVO

II. C. 1. Concepto y clasificación de biomarcadores

El término “biomarcador” hace referencia a un indicador que evalúa la interacción entre un sistema biológico y un agente de tipo químico, físico o biológico, además provee información sobre el estado normal o patológico de un individuo (89,90). Dicha interacción depende de características heredadas y adquiridas de un individuo y de las circunstancias de la exposición al agente. La Organización Mundial de la Salud (OMS) en coordinación con las Naciones Unidas y la Organización Internacional del Trabajo definió un biomarcador como: "Cualquier sustancia, estructura o proceso que puede medirse en el cuerpo o sus productos e influir o predecir la incidencia de resultados o enfermedades"(91). Posteriormente, en su informe sobre la validez de los biomarcadores en la evaluación del riesgo ambiental, la OMS ha declarado que una definición verdadera de biomarcador incluye: "casi cualquier medida que refleje una interacción entre un sistema biológico y un peligro potencial, que puede ser químico, físico o biológico" y que "La respuesta medida puede ser funcional y fisiológica, bioquímica a nivel celular o una interacción molecular" (92).

Comprender la relación entre los procesos biológicos medibles y los resultados clínicos es vital el diseño de nuevos y más efectivos tratamientos para los padecimientos y para profundizar en nuestra comprensión de la fisiopatología de la enfermedad (90). Al ser los biomarcadores características objetivas y cuantificables de los procesos biológicos, estos son utilizados para la comprensión y evaluación de diversos aspectos de una enfermedad como la prevención, el diagnóstico, su progresión, la respuesta a la terapia o la evaluación experimental de medicamentos, así como la identificación de individuos sensibles (89). En este sentido un biomarcador debe poder medirse con precisión y de forma reproducible, por lo que el proceso de selección y aprobación de un biomarcador debe ser validado para conocer la exactitud, precisión, especificidad, fiabilidad y sensibilidad del procedimiento analítico empleado y la correcta interpretación de datos de la medición (29,89).

La validación de biomarcadores apropiados requiere un largo periodo de estudio, con tres fases: descubrimiento, validación clínica e implementación (93). Involucra el aporte de diferentes grupos de trabajo con la finalidad de: I) desarrollar y estandarizar protocolos permitan la adquisición, almacenamiento y tiempo de manejo de la muestra; II) determinar la metodología teniendo en cuenta la demografía, estilo de vida, y variables genéticas que influyen las medidas; y III) evaluar estudios prospectivos de sensibilidad y especificidad del biomarcador para predecir el riesgo a padecer una enfermedad (29,89). En cuanto al objetivo al que va dirigida la evaluación de un biomarcador, estos pueden ser diferenciados en siete tipos (93):

- a) *Biomarcador de susceptibilidad/ riesgo*: indica el potencial para desarrollar una enfermedad o condición médica, en un individuo que no la presenta en la actualidad.
- b) *Biomarcador de diagnóstico*: se usa para detectar la presencia de una enfermedad o condición de interés.
- c) *Biomarcador de monitorización*: indicador medido de forma serial para medir el estatus de la enfermedad o condición médica, para evidenciar la exposición o el efecto de un medicamento o agente ambiental.
- d) *Biomarcador de pronóstico*: usado para identificar la probabilidad de un evento clínico, recurrencia o progresión de la enfermedad, en pacientes que tienen una enfermedad o condición médica de interés.
- e) *Biomarcador predictivo*: usado para identificar individuos que son más propensos que individuos similares sin el marcador, de presentar un efecto favorable o desfavorable de la exposición a un medicamento o agente ambiental.
- f) *Biomarcador de respuesta al tratamiento*: usado para probar que un individuo ha presentado una respuesta biológica ante la exposición a un medicamento o agente ambiental.
- g) *Biomarcadores de seguridad*: biomarcador medido antes o después de la exposición a un medicamento o agente ambiental para indicar la probabilidad, presencia o grado de toxicidad como efecto adverso.

El monitoreo biológico es una medida efectiva en los programas de salud ocupacional en situaciones donde los trabajadores se encuentran expuestos a factores que son potencialmente perjudiciales a la salud. En este contexto, los biomarcadores han contribuido en el desarrollo de políticas en salud ocupacional, ya que son una herramienta complementaria en los estudios de epidemiología ambiental a partir de los cuales se desarrollan programas de vigilancia. En diversas ocasiones, el objetivo de los estudios epidemiológicos es identificar y evaluar los factores de riesgo asociados a enfermedades, así como el reconocimiento temprano de efectos adversos generados por las condiciones ambientales, por lo que pueden ser utilizados para evidenciar exposición laboral e impacto ambiental en grupos específicos y cuantificar la exposición relacionada con la susceptibilidad de los individuos (89).

El desarrollo tecnológico posibilita que los biomarcadores implementados sean cada vez más específicos y son fundamentales en el desarrollo de las diferentes disciplinas biomédicas, que permiten la elaboración de las estrategias y políticas para mejorar las condiciones de vida de los pacientes y de las personas en general, al generar información que permite realizar correctivos para disminuir la mortalidad y morbilidad de los individuos. A partir de esta información es posible identificar nuevos riesgos y grupos de trabajadores con posibilidad de padecer enfermedades ocupacionales, así como establecer políticas y programas prevención de control para estas poblaciones (29,89).

En el contexto de los trastornos psiquiátricos, actualmente el diagnóstico depende de la evaluación de los síntomas y la realización de una adecuada entrevista clínica; sin embargo, pocos pacientes que padecen trastornos depresivos llegan a las consultas especializadas, y algunos nunca son diagnosticados, lo que ocasiona un retraso en el inicio del tratamiento y empeora el pronóstico de estos pacientes. Por otro lado, la falta de recursos y tiempo requerido para una entrevista clínica adecuada puede ser la causa de estos errores en el diagnóstico (29). En estos casos un biomarcador que ayude a dirigir el diagnóstico de TDM sería de gran utilidad, ya que permitiría identificar individuos en riesgo y canalizarlos al especialista para su correcta evaluación y tratamiento, lo que impactaría mejorando el pronóstico de la enfermedad, favoreciendo la recuperación y calidad de vida del individuo, además de disminuir los costes individuales y sociales de este padecimiento (94).

II. C. 2. Marcadores bioquímicos en el diagnóstico de la depresión

En el contexto de las ideas expuestas, se ha investigado sobre potenciales biomarcadores que pudieran servir de apoyo a los médicos psiquiatras en la detección del trastorno depresivo (**Tabla 5**), dando como resultado el desarrollo de pruebas como la de supresión con dexametasona desarrollada a finales de los años 70's, la cual se convirtió en uno de los temas más controvertidos de la psiquiatría moderna, aunque siguió siendo aplicada en diferentes estudios, esta prueba reportaba una sensibilidad y una especificidad de 36% y 56% respectivamente (10), posteriormente se añadió a la prueba la infusión de hormona liberadora de corticotropina, que elevó la sensibilidad a 61% y la especificidad a 71% (11), en los últimos años, con la mayor comprensión de la fisiopatogenia de la enfermedad, se han desarrollado biomarcadores con mayor exactitud y precisión, como el análisis de expresión de genes inducidos por lipopolisacáridos, en cultivo celular, aunque dicha estimulación necesitaba una incubación de 6 hrs(12) o los estudios con biomarcadores proteícos en suero (19). Sin embargo, no se ha llegado a un consenso en el uso de alguna de estas metodologías en la práctica diaria de los Médicos Psiquiatras, debido a la dificultad ejecutiva, a sus costos y a la variabilidad en la sensibilidad y especificidad de las pruebas(95).

Tabla 5. Biomarcadores desarrollados para la detección del trastorno depresivo mayor

Prueba de supresión con Dexametasona	Test Dexametasona / hormona liberadora de corticotropina (dex / CRH)	Medición de expresión de 7 genes inducidos por LPS. Spijker 2010	Niveles séricos de 9 biomarcadores proteícos. Papakostas 2013.
Sensibilidad 36%	Sensibilidad 61%	Sensibilidad: 76.9%	Sensibilidad: 92%
Especificidad 56% (ansiedad, esquizofrenia, alcoholismo, demencia)	Especificidad 71% •82 pacientes y 28 controles.	Especificidad: 71.8% •21 casos y 21 controles •Replicación: 13 casos y 14 controles	Especificidad: 81% •36 pacientes y 43 controles •Replicación: 34 pacientes.

- a. dex / CRH tes t= Examen de Dexametasona / hormona liberadora de corticotropina; LPS= lipopolisacáridos. Fuente (9–11,25)

II. C. 3. Marcadores genéticos asociados con el trastorno depresivo mayor

La investigación de biomarcadores genéticos para la identificación, la monitorización del curso de TDM o la respuesta al tratamiento se ha enfocado en: la búsqueda de variantes genéticas o SNPs, que contribuyen al 42% de la varianza en la respuesta a los antidepresivos; las variantes a nivel epigenético como el análisis de los patrones de metilación del ADN y en la cuantificación de la expresión génica(96).

La investigación de los potenciales genes blanco, se enfocan en los sistemas biológicos que se han asociado con mayor consistencia al TDM, como son: los participantes en el eje HHA(95), tales como genes codificantes de receptor de glucocorticoides *NR3C1*, (del inglés, nuclear receptor subfamily 3 group C member 1, miembro 1 del grupo C de la subfamilia 3 de receptores nucleares)(97,98), o involucrados en la señalización de los mismos *FKBP5* (del inglés FK506-binding protein 5, proteína 5 de unión a FK506) (96,99); los involucrados a los procesos de inflamación, como los genes codificantes de IL-1b, IL-11, TNF- α y MIF, entre otros(15,97,100); los que participan en la neuroplasticidad, tales como los genes codificantes de BDNF y VGF (del inglés VGF Nerve Growth Factor Inducible, factor de crecimiento nervioso inducible) (97) y los genes asociados a la vía serotoninérgica, como los genes que codifican para los receptores de serotonina como *HTR1A*, *HTR1B*, *HTR2A*, *HTR2C* (96,101,102), el transportador *SLC6A4* (14,15,96) o las proteínas asociadas (*S100A10*)(103).

De este último grupo vale la pena mencionar la importancia de los siguientes genes:

SLC6A4 es un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 17 (17q11.2) que cuenta con 15 exones y codifica para el transportador de serotonina (SERT o 5-HTT). Es miembro de la superfamilia de acarreadores de solutos (SLC, del inglés solute carrier) y es dependientes de sodio. La función principal de SERT es la regulación de la señalización serotoninérgica a través del transporte de moléculas de serotonina al interior de las células; por ejemplo, en SNC moviliza a la serotonina desde la hendidura sináptica de regreso a la terminal pre-sináptica para su reutilización o catabolismo. El SERT desempeña un papel clave en la regulación de la disponibilidad de serotonina para los receptores de serotonina. Se ha relacionado a la función de SERT con diversos desordenes del estado de ánimo como el TDM, el desorden de ansiedad, desorden obsesivo compulsivo, desorden límite de la personalidad y desordenes de estado de ánimo esporádico. Existen dos isoformas de

SERT producidas por splicing alternativo, una de 630 aminoácidos (70.3kDa) y otra de 672 aminoácidos (74.9kDa). Estas isoformas son el resultado de la presencia de un polimorfismo en la región promotora aproximadamente a 1 kb río arriba del sitio de inicio de la transcripción y está compuesto por 16 elementos repetidos, lo que genera una mutación de inserción/delección (5-HTTLPR del inglés Short polymorphism of the serotonin transporter, polimorfismo corto del transportador de serotonina) de 43pb en la secuencia(104–106). El alelo corto, mayoritario en población caucásica, está asociado con una menor eficiencia transcripcional del promotor en comparación con el alelo largo, lo que afecta la tasa de absorción de serotonina(47). Diversos estudios han relacionado la presencia de una o dos copias del alelo corto con un incremento en la presencia de síntomas depresivos, depresión diagnosticable y tendencias suicidas en relación con eventos vitales estresantes que las personas homocigóticas para el alelo largo(107,108); aunque los resultados al momento han sido controversiales como para asegurar que este polimorfismo pueda jugar en el comportamiento y la depresión(47). El transportador de serotonina (SERT) es el blanco terapéutico de los antidepresivos ISRS y parcialmente de los duales (109), los cuales bloquean a SERT para inducir un incremento farmacológico de los niveles de serotonina en los pacientes con TDM, lo que induce a los cambios conductuales (16), cuando los pacientes reciben ISRS, incrementa la expresión de *SERT* en linfocitos después de 6 semanas de tratamiento.

HTR1A es un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 5 (5q12.3) que cuenta solo con 1 exon y codifica para el receptor de serotonina tipo 1A (5-HTR1A), éste gen codifica para una proteína de 422 aminoácidos (46.1 kDa). El 5-HTR1A pertenece a la familia de las proteínas G que cuando se une a su ligando desencadena la señalización que inhibe la actividad de adenilato-ciclase y regula la liberación de iones Ca^{2+} de las reservas intracelulares(104–106). El receptor 5-HT1A es el receptor de serotonina más abundantemente expresado en el cerebro, se expresa también de forma constitutiva en linfocitos T (20). Este receptor desempeña un papel en la regulación de la liberación de serotonina y en el metabolismo de serotonina y dopamina. A nivel de SNC regula los niveles de dopamina y serotonina en el cerebro y, por lo tanto, afecta la actividad neuronal, el estado de ánimo, el comportamiento y la cognición. Además, desempeña un papel en la respuesta a los estímulos ansiogénicos(104–106). Se considera que el receptor 5-HT1A juega un papel principal en la migración neuronal, crecimiento de neuritas, y la formación de sinapsis inherente al proceso de neurodesarrollo (110). Varios estudios de meta-análisis han reportado diversos polimorfismos en la región promotora del gen *HTR1A* con una

asociación positiva para el desarrollo del TDM (110,111) y la respuesta al tratamiento farmacológico (112), su disminución y/o alteraciones funcionales están asociadas con el establecimiento de conductas relacionadas al TDM, su expresión está ligada al adecuado funcionamiento de este tipo celular, además es el blanco de nuevos fármacos antidepresivos (20).

S100A10 es un gen localizado en el brazo largo del cromosoma 1 (1q21.3) que cuenta con 3 exones que codifican para una de 97 aminoácidos (11.2 kDa), conocida como proteína P11 o proteína intracitoplasmática 11, pertenece a la familia de las proteínas S100 de unión a Calcio, las cuales se localizan en el citoplasma y/o núcleo de una amplia gama de células, y participan en la regulación de una serie de procesos celulares, como la progresión y diferenciación del ciclo celular (104–106). Se ha reportado que p11 influye en la transmisión serotoninérgica y que su expresión se reduce en un modelo de depresión en ratones, así como en el tejido cerebral post-mortem de casos de TDM (113). La proteína p11 desempeña un papel fundamental en la modulación dinámica de la función del receptor serotoninérgico HTR1B; que participa en el control inhibitorio local de la liberación de serotonina. Se ha reportado que la proteína p11 aumenta la localización de los receptores 5-HT1B en la superficie celular (17,113). Además, se ha implicado en la patogénesis del TDM (114,115) y los mecanismos terapéuticos de la acción de antidepresivos (113,116), aunque los resultados han sido controversiales(117). En los pacientes con diagnóstico de TDM se han reportado niveles significativamente bajos de expresión de *P11*, lo que mejora considerablemente tras 20 semanas de tratamiento (21).

II. C. 4. Análisis de expresión génica en células mononucleares de sangre periférica.

La expresión de los componentes serotoninérgicos está diferencialmente regulada entre los diversos tejidos y tipos celulares (118).

Se ha reportado que diversas células del sistema inmunológico poseen la maquinaria para producir, degradar, almacenar, liberar y responder a 5HT (118,119). Las células dendríticas, macrófagos, monocitos y células cebadas internalizan 5HT, de forma que la regulación de los niveles de 5HT se han asociado a la regulación de la inflamación,

la quimiotaxis y la fagocitosis (118,120). Además, se ha reportado que la 5HT contribuye en la interacción entre monocitos y células NK, así como la activación de los linfocitos T vía estimulación por macrófagos y en la modulación de la diferenciación de células dendríticas a partir de monocitos (73,118).

Diversos estudios han propuesto un proceso inmunológico crónicamente activado con la participación activa de células T en la progresión y resolución de un evento depresivo (77,120). Esto convierte a los linfocitos periféricos en herramientas biológicas esenciales para la determinación de la participación del sistema inmunológico en la fisiopatología de la depresión, aunado a ello, se ha demostrado que, adicionalmente a las neuronas, los linfocitos expresan de forma constitutiva proteínas del sistema serotoninérgico, como SERT y los receptores para 5-HT (5-HT1A, 5-HT2, etc.) (119,121,122). En pacientes con depresión mayor se detectan, tanto en neuronas como en linfocitos, los mismos defectos numéricos y funcionales de las proteínas del sistema serotoninérgico, que consisten en una disminución del SERT y en defectos funcionales en los receptores (14,15). Cuando los pacientes reciben tratamiento con antidepresivos tricíclicos o ISRS el número de SERT presente en los linfocitos de sangre periférica se incrementa después de 6 semanas de tratamiento (16).

En una gran proporción de casos, la sintomatología del trastorno depresivo se desarrolla en un contexto de estrés psicosocial, lo que altera la homeostasis del organismo y la intercomunicación de las INEI (77).

Actualmente, las observaciones clínicas parecen apuntar a un modelo complejo del trastorno depresivo. En dicho modelo, las células del sistema inmunológico, como los linfocitos, interactúan con las células inmunes innatas del SNC y otras células inmunes periféricas, así como con el sistema neuroendocrino, determinando los perfiles inflamatorios que se pueden encontrar en algunos subtipos del trastorno depresivo (73,77). Por lo tanto, la determinación e identificación del papel de estas células en individuos en riesgo de padecer depresión es fundamental para la identificación oportuna de síntomas depresivos y disminuir los posibles efectos que pueden provocar los mismos en la vida de los individuos que presenten esta enfermedad.

A raíz de estos descubrimientos, se realizaron estudios de expresión génica por medio de microarreglos, que incluyeron 40 genes candidatos, encontrando que la cuantificación de la expresión de 5 de ellos (*PDGFC*, *SLC6A4*, *ARHGAP24*, *PRNP*, y

HDAC5), daban una sensibilidad de 80% y una especificidad de 92% para distinguir casos con trastorno depresivo mayor y sujetos control (19). En este mismo sentido, vale la pena mencionar el trabajo de investigación realizado en México por el Laboratorio de Psicoimmunología del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM), que se ha enfocado en el estudio de las alteraciones en la expresión de genes asociados al sistema serotoninérgico tales como *SLC6A4* (codifica para SERT), *HTR1A* (codifica para 5-HT_{1A}) y *S100A10* (codifica para p11) en linfocitos de sangre periférica (123).

El estudio no publicado realizado en el INPRFM en pacientes con TDM durante 52 semanas de tratamiento con ISRS mostró que los niveles de expresión de los genes codificantes para SERT, 5-HT_{1A} y P11 en PBMC fueron significativamente diferentes en pacientes con reciente diagnóstico de TDM que no habían recibido tratamiento, en comparación con los individuos control sin depresión. Tras iniciar el tratamiento farmacológico, los pacientes mostraron mejoría clínica desde la semana 20 de tratamiento farmacológico, que se reflejó en el puntaje de las escalas HDRS y BDI; mientras que, al evaluar la expresión cuantitativa de los genes mencionados, se observó el restablecimiento de los niveles de expresión después de 20 semanas de tratamiento, siendo concordante con los resultados de las escalas clinimétricas(123).

CAPÍTULO III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

III. A. JUSTIFICACIÓN

Con base en los resultados, no publicados (123), obtenidos por el equipo del Laboratorio de Psicoimmunología del INPRFM, los investigadores han propuesto que la determinación conjunta de los niveles de expresión génica de *SLC6A4*, *HTR1A* y *S100A10* en PBMC permitiría la confirmación del diagnóstico de TDM en población no hospitalaria.

El uso de biomarcadores diagnósticos para el TDM, cobra especial relevancia en aquellos grupos donde los trastornos del ánimo se encuentran subdiagnosticados, debido a las repercusiones laborales, sociales o económicas. Tal es el caso de los pilotos aviadores, quienes, al estar sometidos a estrés laboral, factores psicosociales adversos en su entorno y factores de riesgo que les confiere su propia biología, tendrían un riesgo incrementado de presentar un episodio depresivo y que, sin embargo, difícilmente cuentan con un diagnóstico de depresión en las diferentes valoraciones psicológicas que se les realizan a menudo.

III. B. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe una alteración en el perfil de expresión de los genes *SLC6A4*, *HTR1A* y *S100A10*, previamente asociados a TDM, en los pilotos aviadores?

III. C. HIPÓTESIS

Dada la prevalencia de los trastornos depresivos en la población general, se esperaría encontrar una frecuencia aproximada de 7% entre los pilotos aviadores, que se vería reflejado en un perfil de expresión de *SLC6A4*, *HTR1A* y *S100A10*, similar al que presentan los pacientes con TDM y que sería significativamente diferente al perfil que expresan los controles sanos.

III. D. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comparar los perfiles de expresión relativa de genes involucrados en la vía serotoninérgica (*SLC6A4*, *HTR1A* y *S100A10*) en una muestra de pilotos aviadores, pacientes diagnosticados con trastorno depresivo mayor y sujetos control.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Conocer la frecuencia del trastorno depresivo mayor (TDM) y otras psicopatologías en una muestra de pilotos aviadores, mediante la entrevista psiquiátrica y la aplicación de escalas clinimétricas.
2. Obtener el cociente de expresión de los genes *SLC6A4*, *HTR1A* y *S100A10* con respecto al gen de referencia *ACTB*, en pacientes con TDM, pilotos aviadores y sujetos control.
3. Determinar los genes diferencialmente expresados en cada grupo de estudio.
4. Comparar los perfiles de expresión relativa de *SLC6A4*, *HTR1A* y *S100A10* entre pacientes con TDM, pilotos aviadores y sujetos control.

CAPÍTULO IV. METODOLOGÍA

IV. A. DISEÑO DEL ESTUDIO

Acorde con la taxonomía de Feinstein A, 1985, el estudio tiene las siguientes características: comparativo, de procedimiento, asignación de agente por escrutinio, transversal, homodémico y ambipectivo.

IV. B. VARIABLES

A continuación, se describen las diferentes variables usadas durante el presente trabajo.

Tabla 6. Descripción de las variables

VARIABLE	NIVEL DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	DEFINICIÓN
Cocientes: Ct_{SLC6A4} / Ct_{ACTB} , Ct_{HTR1A} / Ct_{ACTB} y $Ct_{S100A10} / Ct_{ACTB}$	De razón	DEPENDIENTES ^a	Cociente de expresión de cada gen blanco en relación con el gen de referencia <i>ACTB</i> , a partir de 1 µg de RNA total, calculado como $Ct_{gen\ blanco} / Ct_{ACTB}$
		RT-qPCR	
$2^{-\Delta Ct}$ de los genes SLC6A4, HTR1A y S100A10	De razón	RT-qPCR	Cuantificación relativa de la expresión génica, calculado como $2^{-(Ct_{gen\ blanco} - Ct_{ACTB})}$
Trastorno depresivo mayor	Nominal	INDEPENDIENTES	Afección del estado de ánimo donde el paciente experimenta alteraciones conductuales como tristeza, pérdida de interés en todas sus actividades y dificultad para experimentar placer por al menos 2 semanas.
		MINI Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional	
Severidad de la depresión	Intervalar	Escala de Depresión de Hamilton HDRS e Inventario de depresión de Beck BDI	HDRS (21 react): Normal: 0-7 Depresión leve: 8-13 Depresión moderada: 14-18 Depresión grave: 19-22
		BDI (21 react): Depresión mínima: 0-9 Depresión leve: 10-14 Depresión moderada: 15-24 Depresión grave: 25-29	

Trastorno de ansiedad	Nominal	MINI Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional	Depresión muy grave: ≥ 23 Estado subjetivo de incomodidad, malestar, tensión, displacer y alarma que surge como reacción a situaciones percibidas como amenazantes.
Severidad del trastorno de ansiedad	Intervalar	Escala de Ansiedad de Hamilton HAMA	Depresión extrema: ≥ 30 Tiene 14 reactivos. Puntaje: Normal: <6 Leve: 7-17 Moderada: 18-24 Grave: >24
Edad	De razón		Edad al momento de la aplicación
Género	Nominal		1) Masculino 2) Femenino
Escolaridad	Ordinal		1) Primaria 2) Secundaria 3) Preparatoria 4) Universidad o carrera técnica superior universitaria 5) Posgrado
Estado civil	Nominal		1) Casado / Unión Libre 2) Soltero 3) Divorciado / Separado 4) Viudo
Ingreso mensual promedio	Intervalar		1) 85,000 + (clase rica) 2) 35,000 a 84,999 (clase media alta) 3) 11,600 a 34,999 (clase media) 4) 6,800 a 11,599 (clase media baja) 5) 2,700 a 6,799 (clase pobre) 6) 0 a 2,699 (pobreza extrema)
Horas de vuelo	De razón		Horas de vuelo como piloto

- a. Ct ciclo umbral; $2^{-\Delta Ct}$: Dos delta Ct, es un método para calcular la expresión relativa, en muestras independientes; RT-qPCR: Del inglés Quantitative Reverse Transcription PCR, Reacción en cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa.

IV. C. FLUJO DE TRABAJO

En un periodo comprendido entre los años 2016 al 2019 se realizó el diseño del estudio y la captación de participantes, a los cuales se aplicaron diversas escalas clinimétricas y se tomaron muestras de sangre venosa para su posterior análisis molecular. Por último, se llevó a cabo el análisis de resultados, la estandarización del método y la escritura de un artículo de investigación, el cual fue aprobando para su publicación en el año 2022 (155).

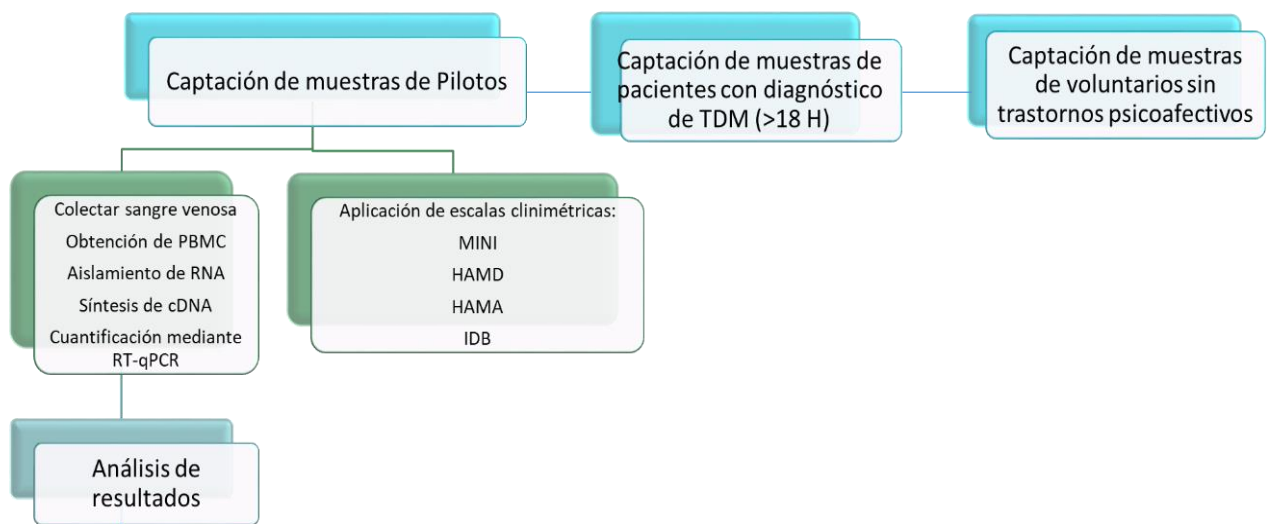


Fig. 3. Flujo de trabajo

IV. D. CAPTACIÓN DE PARTICIPANTES

La captación de los participantes se realizó de acuerdo con los procedimientos aprobados por el Comité de Ética y el comité de Investigación del INPRF, así como de la Dirección General de Protección y Medicina Preventiva en el Transporte perteneciente a la Secretaría de Comunicaciones y Transportes SCT.

Para la captación de los pilotos aviadores se realizó un muestreo por conveniencia durante el periodo de 2 años que comprendió de enero del 2016 a diciembre del 2017 y se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de análisis clínicos de la Subdirección de Certificación Aeromédica y Marítima.

Los controles y pacientes con TDM incluidos en el análisis son parte de las muestras que se captaron para el proyecto de depresión mayor con registro NC150048 desarrollado en el Laboratorio de Psicoimmunología del INPRFM.

Tabla 7. Criterios de inclusión

PILOTOS	Pilotos aviadores que acudan a realizar el examen psicofísico integral a SCAM. Hombres y mujeres Edad productiva con mayoría de edad (18-64 años)
PACIENTES	Hombres y mujeres Edad productiva con mayoría de edad (18-64 años) Individuos diagnosticados con depresión mayor de acuerdo con el DSM-5. Puntaje mayor o igual a 15 en HDRS.
CONTROLES	Hombres y mujeres. Edad productiva con mayoría de edad (18-64 años) Valoración psiquiátrica sin alteraciones: Mini sin alteraciones, HAMD <8

Tabla 8. Criterios de exclusión

<p>Que no acepten participar y no firmen el consentimiento informado.</p> <p>Consumo de antiinflamatorios, hormonas esteroideas o algún otro inmunomodulador.</p> <p>Examen toxicológico positivo.</p> <p>Patologías del sistema inmunológico o que cursen con un estado pro-inflamatorio, como el síndrome metabólico o las infecciones agudas.</p> <p>Enfermedades crónico degenerativas no controladas.</p> <p>Obesidad.</p> <p>Trastorno bipolar, trastornos psicóticos o del espectro de esquizofrenia.</p> <p>Trastornos neurológicos como demencia, crisis convulsivas, accidente cardiovascular o antecedentes de daño al sistema nervioso central.</p>

IV. E. EVALUACIÓN CLÍNICA

Se realizó una historia clínica y exploración física completa a todos los participantes, incluyendo una entrevista psiquiátrica. En el caso de los pilotos aviadores, como parte del examen psicofísico habitual, se les realizó también una encuesta que incluyó datos como escolaridad, ingresos socioeconómicos mensuales y horas vuelo, entre otros (ver Anexo 1).

Las pruebas clinimétricas que se aplicaron durante la evaluación psicológica/psiquiátrica a todos los participantes fueron las siguientes:

IV. E. 1. Escala Neuropsiquiátrica Internacional

La escala Neuropsiquiátrica Internacional MINI (del inglés International Neuropsychiatric Interview). Es una entrevista estructurada, de breve duración que evalúa los principales trastornos psiquiátricos del eje I del DSM-IV y el CIE-10. Está dividida en módulos identificados por letras; cada uno corresponde a una categoría diagnóstica. Al comienzo de cada módulo la entrevista cuenta con una o varias preguntas filtro correspondientes a los principales criterios diagnósticos del trastorno. Al final de cada módulo se presentan una o varias casillas diagnósticas que permiten al entrevistador indicar si se cumplieron o no los criterios.

IV. E. 2. Inventario de Depresión de Beck

El inventario de Depresión de Beck (Beck depression Inventory, BDI) es uno de los más empleados tanto en contextos clínicos como de investigación, fue elaborado en 1961 por Aaron Beck y sus colaboradores Ward, Mendelson, Mock y Erbauhg en su primera versión, modificada en 1979 y adaptada al castellano por Vázquez y Sanz en 1999.

Posee una adecuada validez para la detección de trastorno depresivo en población general. Sus índices psicométricos muestran una buena consistencia interna (alfa de Cronbach 0.76 - 0.95), una fiabilidad alrededor de $r = 0.80$ y con respecto a su validez, el Inventario de Depresión de Beck muestra una correlación variable con otras escalas para medir la depresión (Escala de Hamilton para la Depresión HDRS, Escala de Autoevaluación para la Depresión de Zung SDS, Escala de Depresión de Montgomery-Asberg MADRS, etc.). Tiene una buena sensibilidad al cambio, similar a la del HDRS (129).

Esta escala no evalúa síntomas de ansiedad, pero contempla síntomas afectivos, cognitivos, somáticos y vegetativos (125).

IV. E. 3. Escala de Depresión de Hamilton

Escala heteroaplicada que consta de 21 reactivos (130,131), diseñada para evaluar cuantitativamente la gravedad de los síntomas asociados a la depresión en pacientes diagnosticados, así como para poder valorar sus cambios en respuesta al tratamiento (132).

Presenta rendimientos psicométricos muy cercanos y cualquiera de las versiones es válida para la valoración de la gravedad sintomática de la depresión y su respuesta al tratamiento: validez discriminante (HDRS-Impresión Clínica Global de Gravedad, $p < 0,0001$), consistencia interna (alfa de Cronbach: HDRS-6 = 0,6; HDRS-17 y 21 $\geq 0,7$), fiabilidad (CCI: HDRS-6, 17 y 21 $\geq 0,9$) y sensibilidad al cambio (tamaño del efecto $\geq 1,5$ para la HDRS-6, 17 y 21)(132).

IV. E. 4. Escala de Ansiedad de Hamilton

La escala de ansiedad de Hamilton (Hamilton Anxiety Scale, HAM-A) es una escala heteroaplicada, cuyo objetivo es valorar la severidad de la ansiedad de una forma global en pacientes que reúnan criterios de ansiedad o depresión y para monitorizar la respuesta al tratamiento (125,133).

Consta de un total de 14 reactivos que evalúan los aspectos psíquicos, físicos y conductuales de la ansiedad. Fue diseñada en 1959 por Max Hamilton y su objetivo era valorar el grado de ansiedad en pacientes previamente diagnosticados con trastornos de ansiedad. Inicialmente se concibió para valorar la “neurosis de ansiedad”, pero a lo largo del tiempo este concepto ha evolucionado y hoy en día se utiliza para evaluar el “desorden de pánico”, “desorden fóbico” y “ansiedad generalizada”, entre otros (134).

IV. F. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Se realizó la obtención y procesamiento de las muestras de acuerdo con el siguiente esquema:

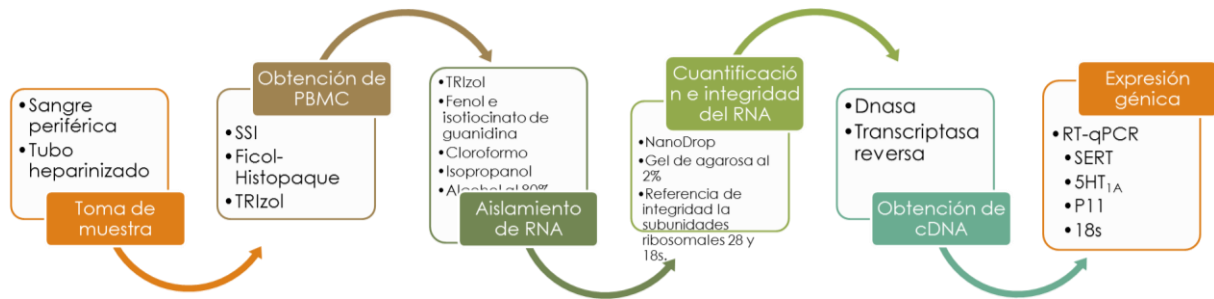


Fig. 4. Diagrama del procesamiento de las muestras

IV. F. 1. Toma de muestra

Tras la firma del consentimiento informado, se realizó punción venosa en el antebrazo y se colectaron 10 mL de sangre venosa utilizando tubos Vacutainer® con anticoagulante heparina para la separación de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y el posterior aislamiento de ácido ribonucleico (ARN).

La obtención de las muestras de los pacientes con TDM y los sujetos control se realizó en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, mientras que la obtención de las muestras de los pilotos aviadores se realizó en la Subdirección de Certificación Aeromédica y Marítima.

IV. F. 2. Obtención de Células Mononucleares de Sangre Periférica

Se depositó la muestra sanguínea de los tubos Vacutainer® en un tubo cónico Falcon® de 50 mL, se agregó solución salina isotónica (SSI) homogeneizando lentamente (1:1, v/v). En un tubo Falcon® de 50 mL con Ficoll-Histopaque se depositó la dilución de sangre usando una pipeta de transferencia (1:2, v/v) para formar un gradiente de densidad. La muestra se centrifugó a 1600 rpm durante 30 minutos a 4°C y se aislaron las células PBMC de la interfase del gradiente con ayuda de una pipeta de transferencia (**Fig. 5**).

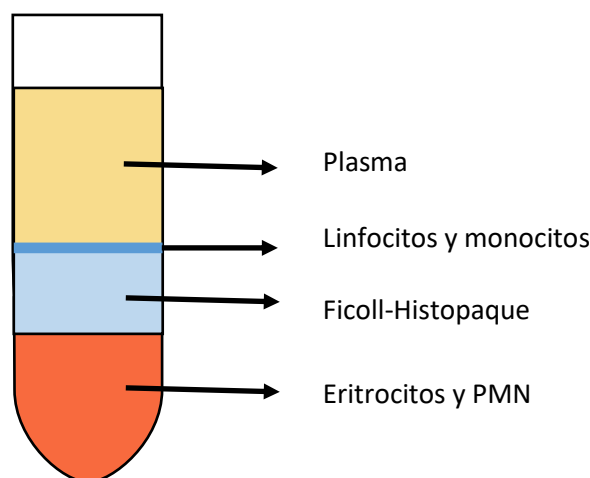


Fig. 5. Interfases del gradiente de densidad.

Las células mononucleares se vaciaron en tubos Falcon® de 15mL, haciendo lavados con PBS 1X (1:1, v/v), seguidos de centrifugación a 1600 rpm por 10 min. Se decantaron y homogeneizaron las células para transferirse a dos tubos Eppendorf® de 1.5 mL, para centrifugar a 1600 rpm x 5 min y decantar.

Finalmente se agregó 1 mL de TRIzol® en cada tubo Eppendorf®, homogeneizando hasta eliminar el botón de células.

Las muestras de pacientes con TDM y sujetos control procesadas en el Laboratorio de Psicoimmunología se resguardaron enseguida a -80°C en un ultracongelador (Thermo Revco) para la preservación e integridad del material genético.

Las muestras de pilotos aviadores se resguardaron en condiciones de congelación en el Laboratorio Clínico de la SCAM, hasta su traslado en hielo seco al Laboratorio de Psicoimmunología para su resguardo a -80°C.

IV. F. 3. Aislamiento de ácido ribonucleico

Se homogeneizó y atemperó la muestra en TRIzol®, se agregaron 200µl de cloroformo, mezclando con vórtex por 15 segundos. Se incubó la muestra a temperatura ambiente por 3 minutos y se centrifugó a 12000g por 15 minutos a 4°C creando una fase acuosa y una fase orgánica. Para precipitar el ácido ribonucleico (ARN) se recuperó la fase acuosa en un tubo nuevo agregando 500µl de isopropanol, se incubó 10 minutos a

temperatura ambiente y se centrifugó a 12000g por 10 minutos a 4°C. Se conservó el pellet y se lavó con etanol al 75%, centrifugando a 12000g por 5 minutos a 4°C, se retiró el sobrenadante y se dejó secar la muestra durante 20 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se resuspendió en 30µl de agua libre de RNAsas y DNAsas.

Las muestras se almacenaron a -80 °C hasta continuar con su procesamiento.

IV. F. 4. Cuantificación e integridad de ácido ribonucleico

La cantidad y calidad del ARN obtenido se determinó mediante la lectura en un espectrofotómetro (NanoDrop®). Los valores óptimos de pureza se consideraron entre 1.8 y 2.00 en una longitud de onda de 260/280 nanómetros.

La integridad del ARN se evaluó mediante geles de agarosa al 2%, teñidos con intercalador de ácidos nucleicos, se utilizó como referencia de integridad las subunidades ribosomales 28 y 18s.

IV. F. 5. Obtención de ácido desoxirribonucleico complementario

Se realizó un tratamiento con DNasa para eliminar los restos de ADN (ácido desoxirribonucleico). Para ello se utilizó el Kit Thermo Scientific DNase I, RNase-free®. En un tubo nuevo, se agregó 1µg del ARN a purificar, 1µl de DNasa1 libre de RNasa, 1µl de buffer 10x con MgCl₂ y agua libre de RNAsas y DNAsas (Gibco®) c.b.p. para 10µl. Se incubó en un termociclador (Master cycler gradient® de Eppendorf) a 37°C durante 30 min. Se añadió 1µl de EDTA (50mM) y finalmente se incubó el ARN a 65°C durante 10 minutos.

La síntesis de cDNA (DNA copia) se realizó a partir de 1 µg de ARN total de cada muestra, como primer paso se agregó 1µl de cebador que hibrida con la cola de poli (A) del ARNm (Oligo(dT)₁₅ Primer® de Promega) y agua libre de RNAsas y DNAsas (Gibco®) c.b.p. para 14µl. Se incubaron las muestras a 75° C durante 5 minutos en el termociclador, se colocaron en hielo por 5 min, y se les adicionaron 7µl de una mezcla maestra que contiene 4µl de buffer de reacción (M-MLV RT 5x Reaction Buffer® de Promega), 1µl de dNTPs 10mM (dNTPs Mix 10Mm® de KAPA) y 2µl de agua libre de RNAsas y DNAsas (Gibco®). La mezcla de la reacción se incubó en el termociclador a 42°C por 2 min, se agregó 1µl de

la transcriptasa reversa (M-MLV Reverse Transcriptase® de Promega) y finalmente se incubó en el termociclador a 42°C por 50 minutos, con un ciclo final de 75°C por 10 minutos.

IV. F. 6. Reacción en Cadena de la Polimerasa punto final

Se realizó amplificación del cDNA obtenido de las muestras, por PCR punto final para el gen codificante de β -actina (*ACTB*) con el fin de comprobar la capacidad de amplificación del mismo (**Tabla 9**).

La PCR se realizó con un volumen final de 20 μ l, con una mezcla que contenía: 11.2 μ l de agua libre de RNasas y DNasas (Gibco®), 4 μ l de buffer (Taq HotStart Buffer 5x® de KAPA), 0.4 μ l de dNTP's 10mM (KAPA®), 1.2 μ l de MgCl₂ 25mM (KAPA®), 2 μ l de primers 5' y 3' (IDT®) (Tabla 10), 0.2 μ l de ADN polimerasa (Taq HotStart DNA polymerase® de KAPA) y 1 μ l cDNA. Cada muestra se procesó en el termociclador utilizando el programa de amplificación descrito en la **Tabla 10**.

Tabla 9. Secuencia de los cebadores para amplificación de *ACTB*

Cebador	Secuencia 5' - 3'
Forward	TGG-CAC-CAC-ACC-TTC-TAC-A
Reverse	TCA-CGC-ACG-ATT-TCC-C

Tabla 10. Condiciones de amplificación PCR punto final para *ACTB*

Temperatura	Tiempo
1 ciclo:	
95°C	3 minutos
30 ciclos:	
95°C	30 segundos
50°C	30 segundos
72°C	30 segundos
1 ciclo:	
72°C	7 minutos

El templado resultante del paso anterior se corrió en gel de agarosa al 2%, marcado con un colorante fluorescente de ácidos nucleicos (GelRed®) para comprobar la calidad del c-DNA.

IV. F. 7. Estandarización de la expresión génica

Se realizó purificación de amplificado en gel de *SLC6A4*, *HTR1A*, *S100A10* y el gen de referencia *ACTB*, para usarlo en las curvas de estandarización.

Para ello se realizó PCR punto final para los 4 genes a partir del cDNA de una muestra control. Para cada gen se colocó en un tubo eppendorf, 10 mL la mezcla de reacción: 5 µL de Buffer de reacción (TaqMan™ Universal Master Mix II® de ThermoFisher), 0.5µl de la sonda del gen a analizar (*SLC6A4* cat. Hs00169010_m1 ThermoFisher®, *HTR1A* cat. Hs00265014_s1 ThermoFisher®, *S100A10* cat. Hs00751478_s1 ThermoFisher® y *ACTB* cat. Hs01060665_g1 ThermoFisher®), 2.5 µL de cDNA (100 ng/µL) y agua libre de RNasas y DNasas (Gibco®). Se agregó un pozo de NTC (control sin DNA) por cada placa de reacción. Se seleccionaron las condiciones de amplificación en el termociclador (CFX96 REAL TIME SYSTEM®) (**Tabla 11**).

Tabla 11. Condiciones de amplificación PCR punto final para *SLC6A4*, *HTR1A*, *S100A10* y *ACTB*

TEMPERATURA	TIEMPO	OBSERVACIONES
95°C	10 min	1 ciclo
95°C	15 seg	50 ciclos
60°C	1 min	

El templado resultante se corrió en gel de agarosa al 2%, marcado con un colorante fluorescente de ácidos nucleicos (GelRed®). Se corroboró que las bandas marcadas correspondieran al tamaño especificado por el proveedor para cada gen y con un bisturí estéril se seccionaron, colocando cada banda de gel en un tubo eppendorf®, posteriormente se siguió el protocolo del kit de extracción de ácidos nucleicos a partir de geles (QIAquick Gel Extraction Kit® de Qiagen) (**Tabla 12**).

Tabla 12. Protocolo de QIAquick Gel Extraction Kit®

1. Agregar 600µl de Buffer QG en 100 mg de gel (~ 100 µl)
2. Incubar a 50° C por 10 minutos y mezclar por vórtex hasta que el gel se disuelva y la solución se torne amarilla.

-
3. Agregar 100µl de isopropanol (100%)
 4. Adicionar la mezcla anterior a un tubo de recolección con columna de centrifugación
 5. Centrifugar a 17900xg por 1 minuto
 6. Desechar el sedimento y conservar la columna
 7. Agregar 750µl de Buffer PE
 8. Centrifugar por 1 minuto
 9. Desechar el sedimento y conservar la columna
 10. Centrifugar por 1 minuto $\geq 10000xg$
 11. Eluir ADN agregando 50µl de Buffer EB al centro de la membrana
 12. Centrifugar 1 minuto a máxima velocidad
 13. Añadir 30µl de Buffer EB
 14. Incubar 1 minuto y centrifugar 1 minuto.
-

Se realizaron curvas de calibración para *SLC6A4*, *HTR1A*, *S100A10* y *ACTB*, a partir del purificado de ADN (aprox. 250 ng) obtenido. Al finalizar la amplificación mediante el software del termociclador, se calculó el ciclo umbral (Ct) de cada dilución, el ajuste de regresión entre el Ct y la dilución del ADN y la eficiencia global de la qPCR, a manera de obtener una curva con valor de $r^2 = 0.99$ en 5 diluciones seriadas 1:10.

IV. F. 8. Determinación de la expresión génica por Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (RT- qPCR)

Posterior a la estandarización, se realizó la determinación cuantitativa de *SLC6A4*, *5-HT1A* y *S100A10* para cada una de las muestras mediante PCR en tiempo real.

Cada mezcla de reacción consistió en un volumen final de 20 µL, constituido por 12.5 µL de Buffer TaqMan Universal PCR Master Mix, 1 µL de Sonda TaqMan®, 5.5 µL de agua libre de RNasas y DNasas (Gibco®) y 2µL de cDNA como templado. El programa de amplificación utilizado fue el mostrado en la **Tabla 13**, las determinaciones de cada una de las muestras se realizaron por triplicado y se incluyó el gen constitutivo *ACTB* en cada análisis para calcular la expresión diferencial con independencia de la cantidad de RNA molde.

Tabla 13. Condiciones de amplificación PCR tiempo real

TEMPERATURA	TIEMPO	OBSERVACIONES
-------------	--------	---------------

95°C	10 min	1 ciclo
95°C	15 seg	40 ciclos
60°C	1 min	

Mediante el software del CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System se determinó el umbral (línea umbral donde las curvas fueron paralelas) y la línea base (tres ciclos previos al punto donde la primera curva de calibración cruzó el umbral), posterior a lo cual el software generó una curva de calibración y realizó la regresión lineal con los puntos de la curva, calculando los valores de Ct.

Se promediaron los valores de Ct para cada muestra y se asumió la misma eficiencia de reacción de 100% (138,139). Se calculó un cociente entre el valor promedio de Ct de cada gen de interés sobre el valor promedio de Ct del gen de referencia *ACTB* que permitió una visualización de la diferencia de expresión génica entre los tres grupos de estudio: pacientes con TDM, sujetos control y pilotos aviadores.

La cuantificación relativa expresada como FC (veces cambio) permite medir la expresión de los genes de interés versus el gen constitutivo que actúa como control, calculándose el número de veces que es mayor o menor el valor promedio de Ct del gen de interés con respecto al gen constitutivo. Al asumir un valor de eficiencia de amplificación similar entre el gen blanco *ACTB* y los genes de interés *HTR1A*, *SLC6A4* y *S100A10*, se procedió a efectuar el ensayo de expresión génica por cuantificación relativa (140). Primero se compararon los resultados entre los tres grupos de estudio, por lo que se calculó la media y desviación estándar para cada uno de ellos y se realizó el contraste mediante el siguiente método (141):

$$2^{-\Delta Ct} = [2^{-(Ct \text{ de gen blanco} - Ct \text{ de gen de interés})}]$$

Para el desarrollo de dicha fórmula se usan los valores promedio del valor de $2^{-\Delta Ct}$ para cada grupo estudiado (141).

IV. G. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó una prueba de distribución de los datos obtenidos (Prueba de Shapiro-Wilk), en el caso de detectar distribución normal se realizaron pruebas de análisis estadístico paramétrico (ANOVA de una vía) y su respectiva prueba post hoc para detectar las diferencias entre los grupos analizados (Bonferroni con varianzas iguales y T2 de Taub para varianzas diferentes, esto determinado por la prueba de Levene), en caso de descartarse una distribución normal de los datos se realizó un análisis estadístico no paramétrico (Prueba de Kruskal Wallis). Se realizaron estadísticos descriptivos para caracterizar los tres grupos.

IV. H. CONDICIONES ÉTICAS

Los datos recabados están protegidos por la ley federal de protección de datos personales, cada uno de los participantes firmó una carta de consentimiento informado que cumple con los criterios de ética y de confidencialidad. Se asignaron claves numéricas para la identificación de las muestras y evitar el uso de datos personales que pudieran afectar a los participantes.

El Proyecto se aprobó por los Comités de Ética y de Investigación del INPRFM.

RIESGOS ASOCIADOS AL ESTUDIO: toma de muestra de sangre periférica, con un riesgo mínimo asociado a dolor leve y pasajero que ocasionalmente podría ocasionar un hematoma.

V. A. CAPTACIÓN DE PARTICIPANTES Y EVALUACIÓN CLÍNICA

- 1) Durante el periodo de 2 años se captaron 146 muestras de pilotos aviadores, de las cuales se excluyeron 29 pilotos, uno por tener una edad de 68 años y veintiocho por presentar una o más razones médicas incluidas: síndrome metabólico (12 pilotos), dislipidemia no controlada (4 pilotos), cardiopatías (2 pilotos), hipertensión arterial no controlada (1 piloto), diabetes no controlada (1 piloto), hipotiroidismo (1 piloto), dermatitis atópica (1 piloto), urolitiasis (1 piloto), hiperplasia prostática (1 piloto), infección de vías urinarias (1 piloto), obesidad (2 pilotos) y consumo de medicamentos (pregabalina 1 piloto, alopurinol 1 piloto, montelukast 1 piloto, antiinflamatorios no esteroideos 3 pilotos). De las 117 muestras restantes se descartaron durante el procesamiento, aquellas con anomalías en el almacenamiento, transporte o extracción de células mononucleares, así como aquellas con degradación del RNA, baja concentración del RNA extraído, ausencia de amplificación en la PCR para beta actina tras la síntesis de cDNA o ausencia de amplificación del gen de referencia o de todos los genes blanco en la PCR tiempo real, quedando un total de 79 muestras.

En cuanto a los sujetos control, se captaron 39 muestras de las cuales se excluyeron 3 (1 por uso de redotex, 1 por asma y 1 por obesidad). De los 36 restantes se descartaron 24 por alteraciones durante el procesamiento incluidos degradación o baja concentración del RNA y ausencia de amplificación en la PCR tiempo real, quedando un total de 12 muestras.

En el caso de los pacientes con TDM, de las muestras que ingresaron al Laboratorio de Psicoinmunología como parte del proyecto con registro NC150048, se incluyeron las muestras de 66 pacientes diagnosticados con TDM con un puntaje mayor o igual a 15 en la escala de depresión de Hamilton. De estos se excluyeron 4 pacientes por presentar obesidad, 3 por tener una infección de vías urinarias en el momento de la captación de muestra, 4 por infección de vías respiratorias altas y 2 por gastroenteritis, adicionalmente se descartaron 14 muestras por alteraciones durante el procesamiento incluidos degradación o baja concentración del RNA y ausencia de amplificación en PCR tiempo real, quedando un total de 39 muestras.

Se muestran a continuación los datos clínicos de los 79 pilotos aviadores, 12 sujetos control y 39 pacientes con TDM, cuyas muestras fueron analizadas.

2) De la población de pilotos el 97.47% fueron hombres (n= 77) y el 2.53% mujeres (n= 2), de los pacientes el 7.41% fueron hombres (n= 9) y el 77.5% mujeres (n= 31), mientras que en el grupo control el 66.67% fueron hombres (n= 8) y el 33.33% mujeres (n= 4) (**Fig. 6**).

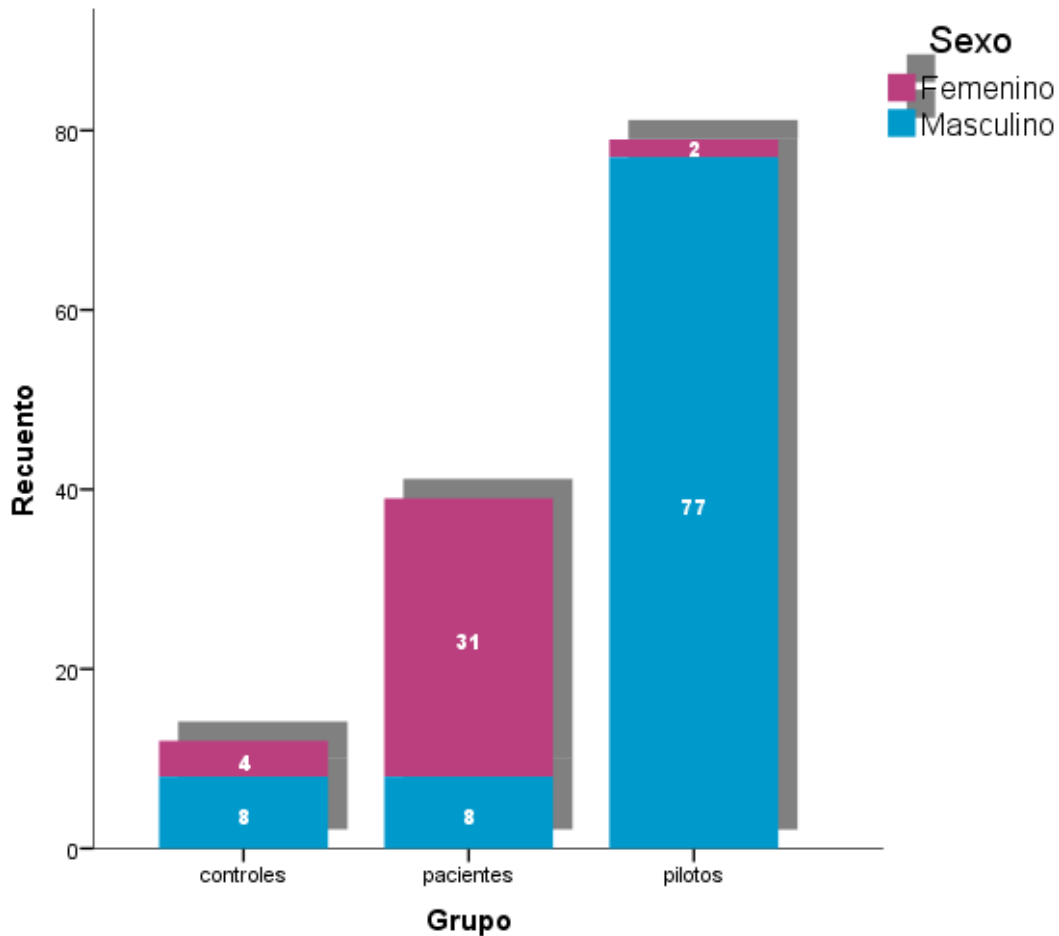


Fig. 6. Gráfico descriptivo de los grupos de estudio por sexo

3) El intervalo de edad de los pilotos aviadores fue de 18 a 61 años, con un promedio de 37.32 y una mediana de 36 años. En los pacientes, el intervalo fue de 19 a 55 años de edad, con un promedio de 35.08 y una mediana de 36 años. Finalmente, la edad de los controles se reportó de 21 a 35 años, con un promedio de 29.58 y una mediana de 30.5 años. En términos de edad, no hubo diferencias significativas entre los tres grupos (ANOVA, $F= 2.736$, $g_{inter}=2$, $g_{intra}=127$, $p=0.069$) (**Fig. 7**).

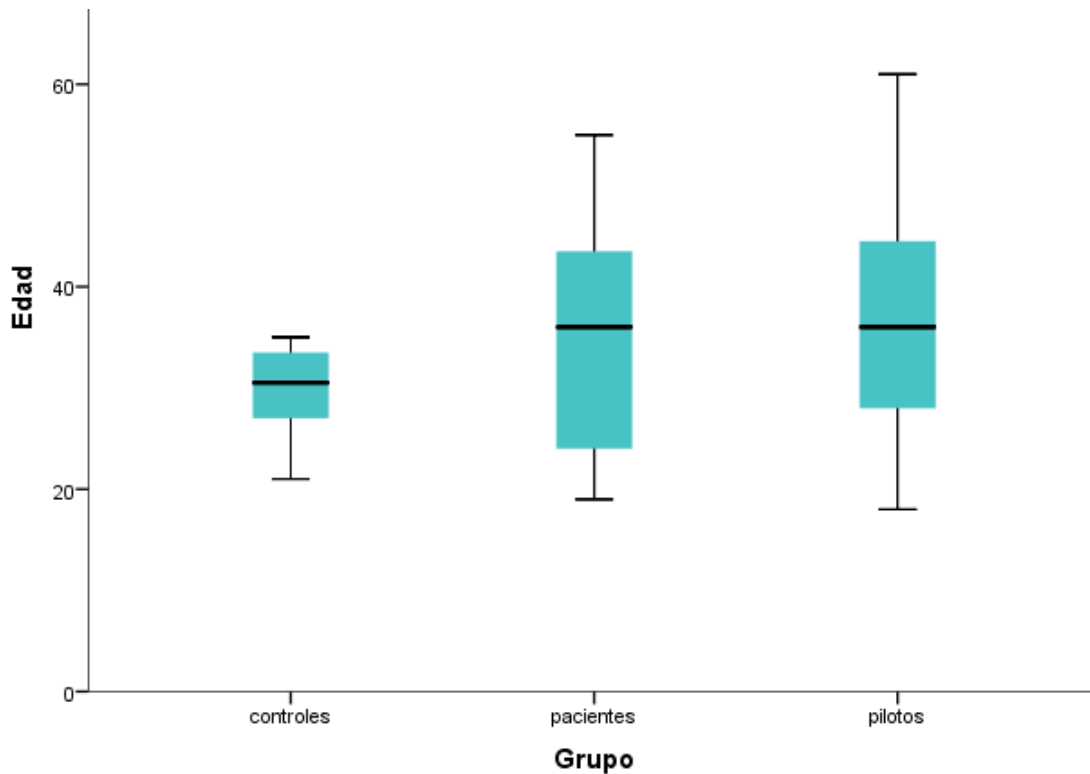


Fig. 7. Gráfico descriptivo de los grupos de estudio controles, pacientes y pilotos aviadores, por edad de los participantes al momento del estudio

4) De acuerdo con el estado civil de los pilotos aviadores, el 49.4% fueron solteros (n= 39), el 41.8% casados (n= 33), el 7.6% divorciados (n=6) y el 1.3% refirió estar en unión libre (n= 1), por otro lado en el grupo de pacientes con TDM, el 53.8% fueron solteros (n= 21), el 23.1% casados (n= 9), el 10.3% estaban en unión libre (n= 4) y el 12.8% se refirieron divorciados (n= 5), en tanto que en el grupo de sujetos control el 83.3% fueron solteros (n= 10), el 8.3% fueron casados (n= 1) y el 8.3 % se encontraban en unión libre (n= 1). Con una probabilidad de error de 2.6%, la prevalencia por estado civil es distinta en los tres grupos de estudio ($X^2= 14.368$, $gl=6$, $p= 0.026$) (**Fig. 8**).

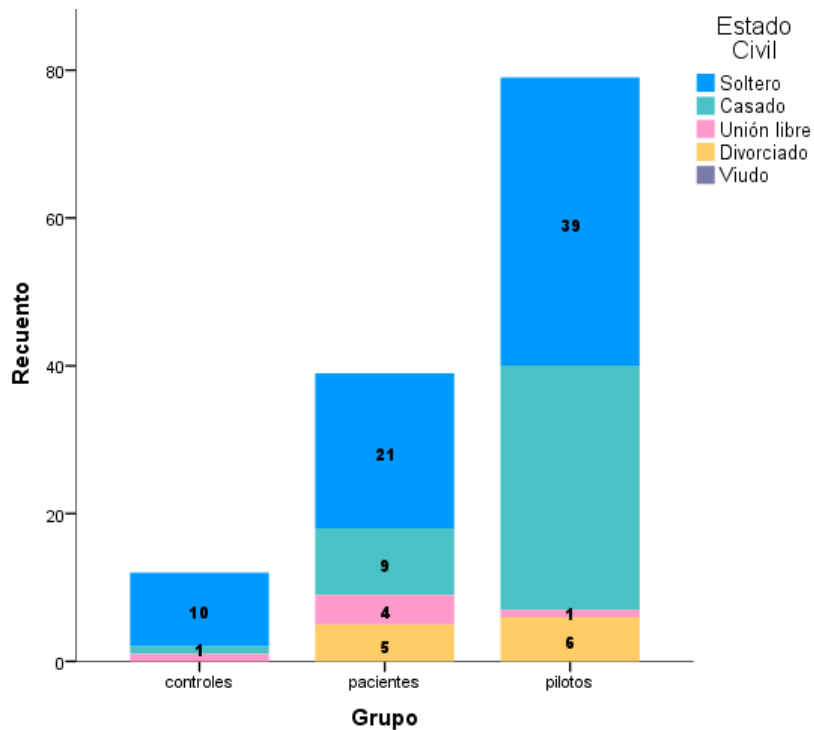


Fig. 8. Gráfico descriptivo de los grupos de estudio Controles, Pacientes y Pilotos aviadores, por estado civil.

- 5) De acuerdo con sus ingresos económicos mensuales, el 44.30% de los pilotos aviadores (n=35) pertenece a la clase socioeconómica media alta, el 18.99% (n=15) pertenece a la clase media, el 10.13% a la clase rica (n=8) y en el resto no se obtuvo información (n=21) (**Fig. 9**).

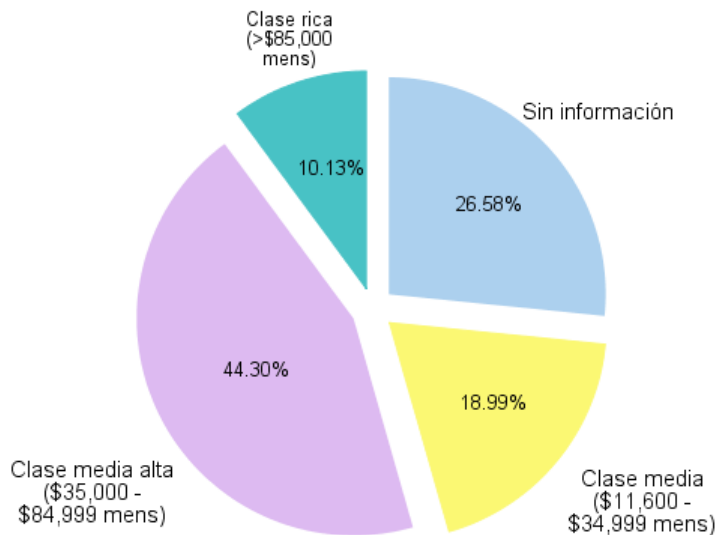


Fig. 9. Gráfico descriptivo de nivel socioeconómico de acuerdo con ingresos mensuales, en pilotos aviadores.

6) La escolaridad máxima de los pilotos aviadores fue carrera universitaria o técnico superior universitario (TSU) en el 74.68% (n=59), preparatoria en el 12.66% (n=10), posgrado en el 1.27% (n=1) y en el resto no se obtuvo información (n=9) (**Fig. 10**).



Fig. 10. Gráfico descriptivo de escolaridad en pilotos aviadores

7) En cuanto a las horas vuelo que reportaron los pilotos aviadores, se obtuvo un intervalo de 70 a 22,500 horas vuelo, con un promedio de 6587.48 y una mediana de 4500 (**Fig. 11**).

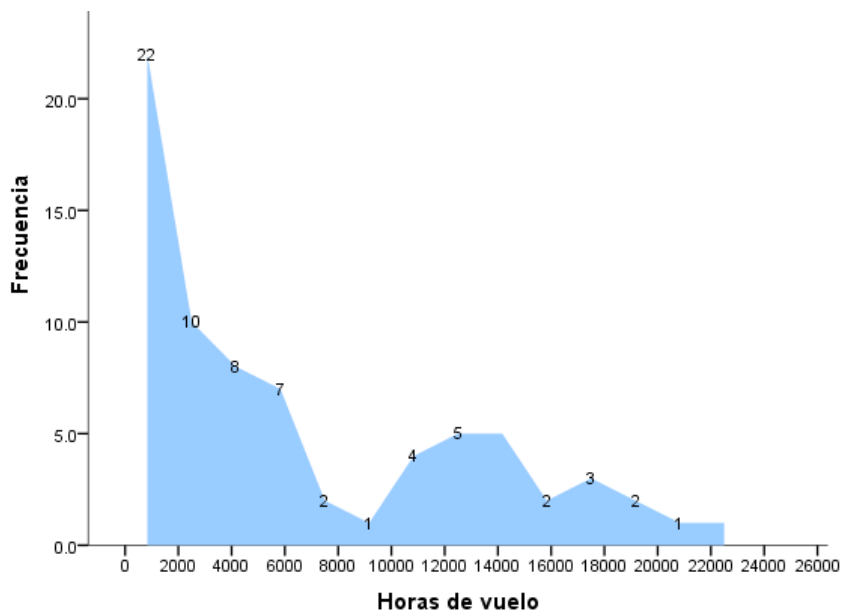


Fig. 11. Gráfico descriptivo de horas de vuelo de pilotos aviadores

V. B. EVALUACIÓN PSICOLÓGICA/ PSIQUIÁTRICA

A los 146 pilotos aviadores, 39 sujetos control y 66 pacientes con TDM se les realizó valoración psicológica mediante una entrevista con médico psiquiatra que incluyó el uso de pruebas clinimétricas. Sin embargo, se muestran únicamente los datos de los participantes que cumplieron con los criterios de inclusión (**Figs. 12, 13 y 14**).

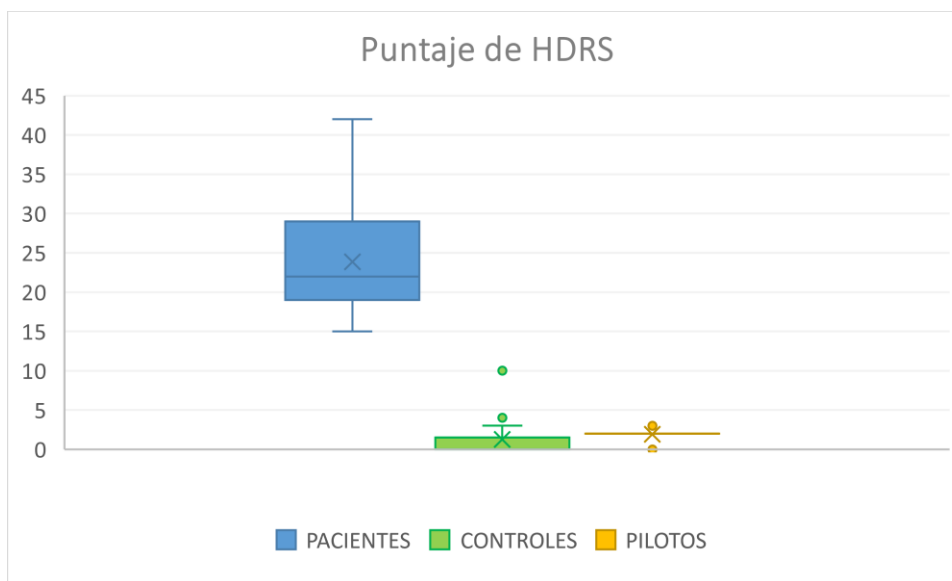


Fig. 12. Puntaje de HDRS en pacientes con TDM, sujetos control y pilotos aviadores

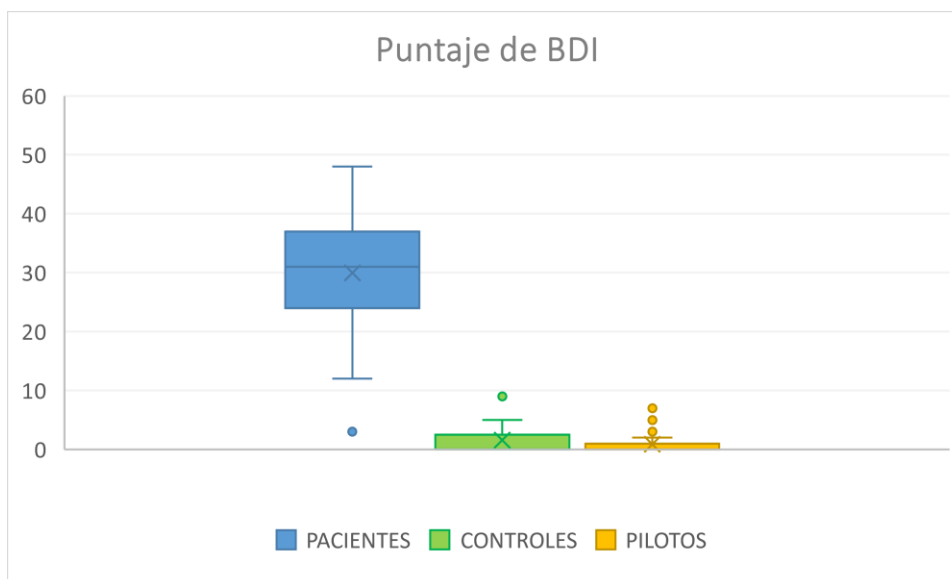


Fig. 13. Puntaje de BDI en pacientes con TDM, sujetos control y pilotos aviadores

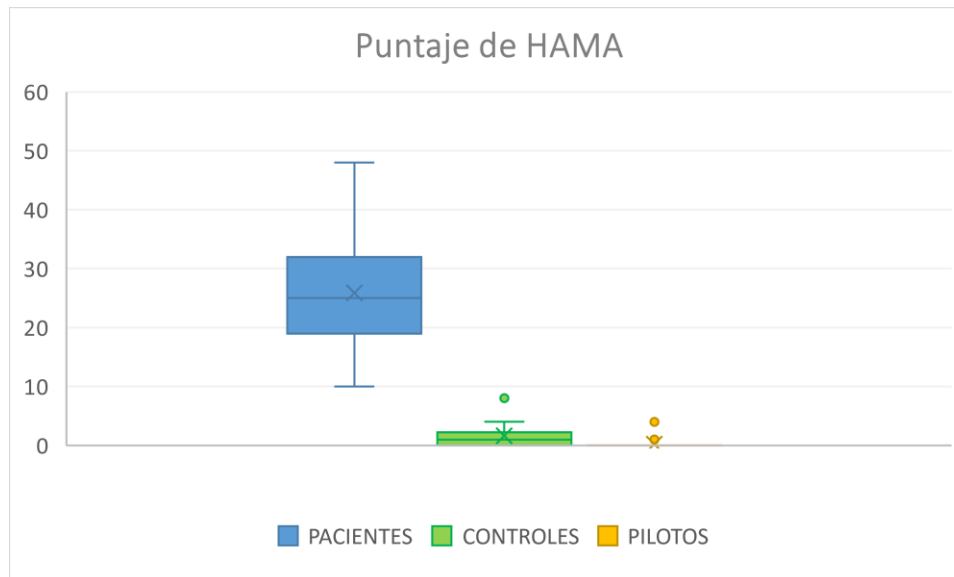


Fig. 14. Puntaje de HAMA en pacientes con TDM, sujetos control y pilotos aviadores

- 8) Ningún piloto aviador fue diagnosticado con TDM, trastorno de ansiedad ni alguna otra alteración mental, de acuerdo con la evaluación por el médico psiquiatra y a la Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional MINI, obteniéndose el puntaje mínimo en las escalas de severidad HDRS, BDI y HAMA.
- 9) Lo mismo ocurrió en el grupo control, con la salvedad de que la escala de severidad para depresión HDRS arrojó un puntaje de 10 en un individuo correspondiente a Depresión leve y un puntaje de 8 en HAMA correspondiente a ansiedad leve, se descartó el diagnóstico de trastorno depresivo mayor y trastorno de ansiedad generalizada en la evaluación psiquiátrica.
- 10) En cuanto a los pacientes con TDM, de acuerdo con la HDRS (**Fig. 15**), el 43.59% tenía depresión muy grave, el 35.90% tenía depresión grave y el 20.51% manifestaba depresión moderada. Mediante BDI (**Fig. 16**), resultó también ser más frecuente la depresión más severa, el 58.97% padecía depresión extrema, 15.38% manifestaba depresión grave, mientras que el 17.95% obtuvo puntajes de depresión moderada y solo el 5.13% tenía depresión leve y el 2.56% depresión mínima.

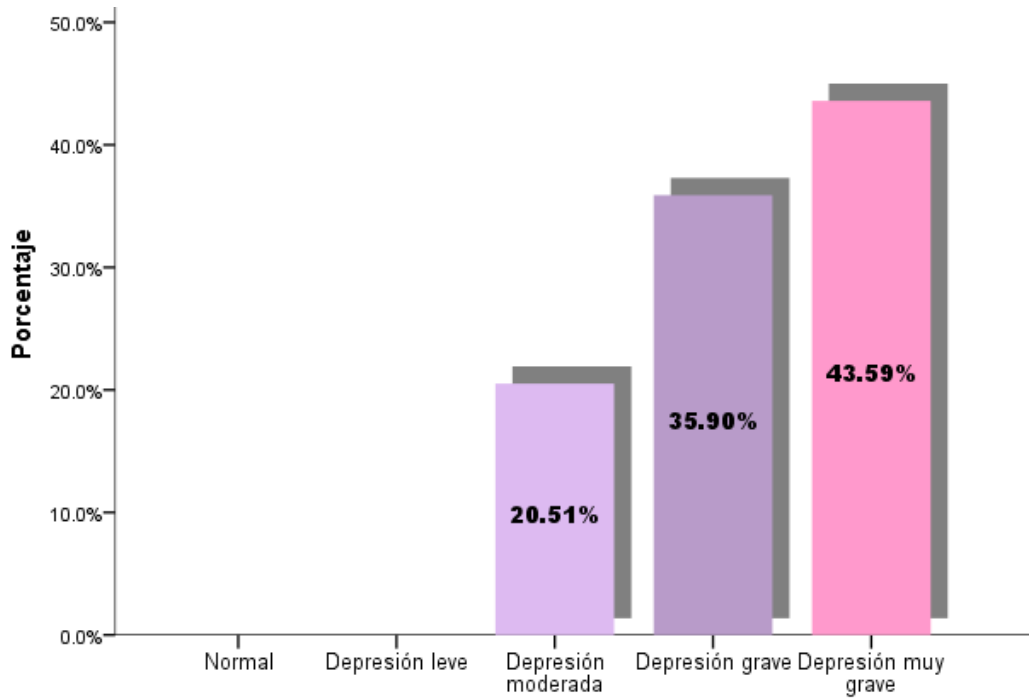


Fig. 15. Severidad de TDM por puntaje de HDRS en pacientes

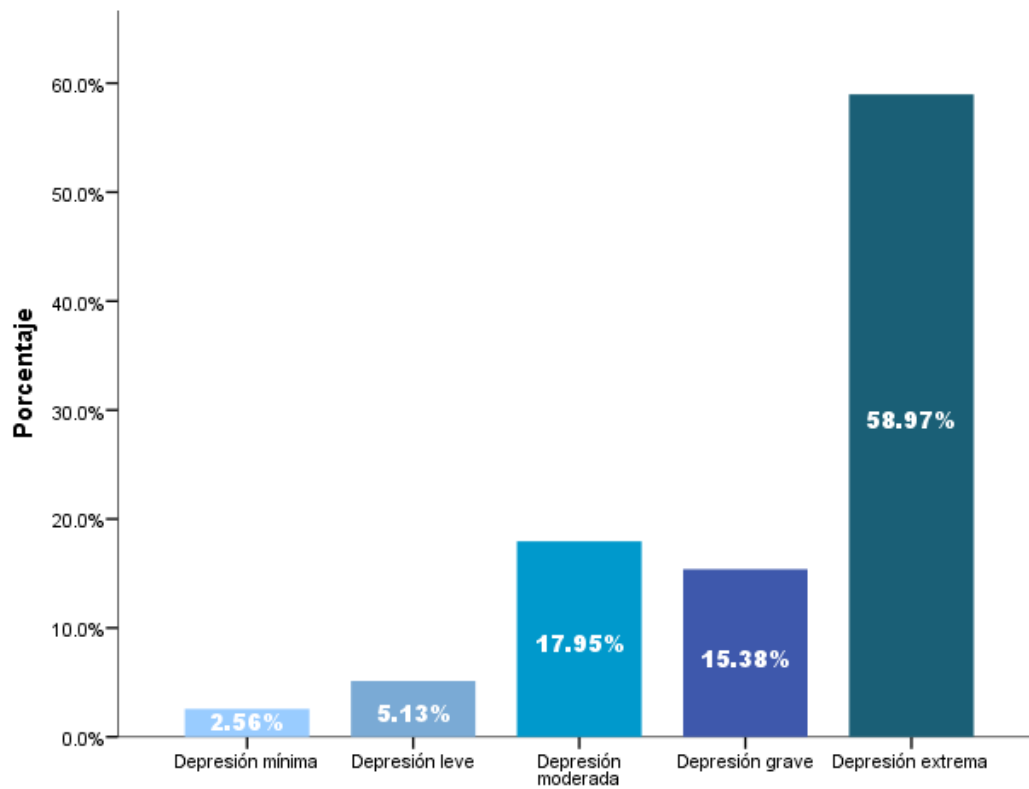


Fig. 16. Severidad de TDM por puntaje de BDI en pacientes

11) La ansiedad fue una característica importante en los pacientes con TDM. Acorde a la correlación no paramétrica Tau b de Kendall, hubo una correlación positiva entre la severidad del TDM determinada por HDRS y la gravedad de la ansiedad determinada por HAMA (Coeficiente de correlación 0.426, $p = 0.004$) (Fig. 17).

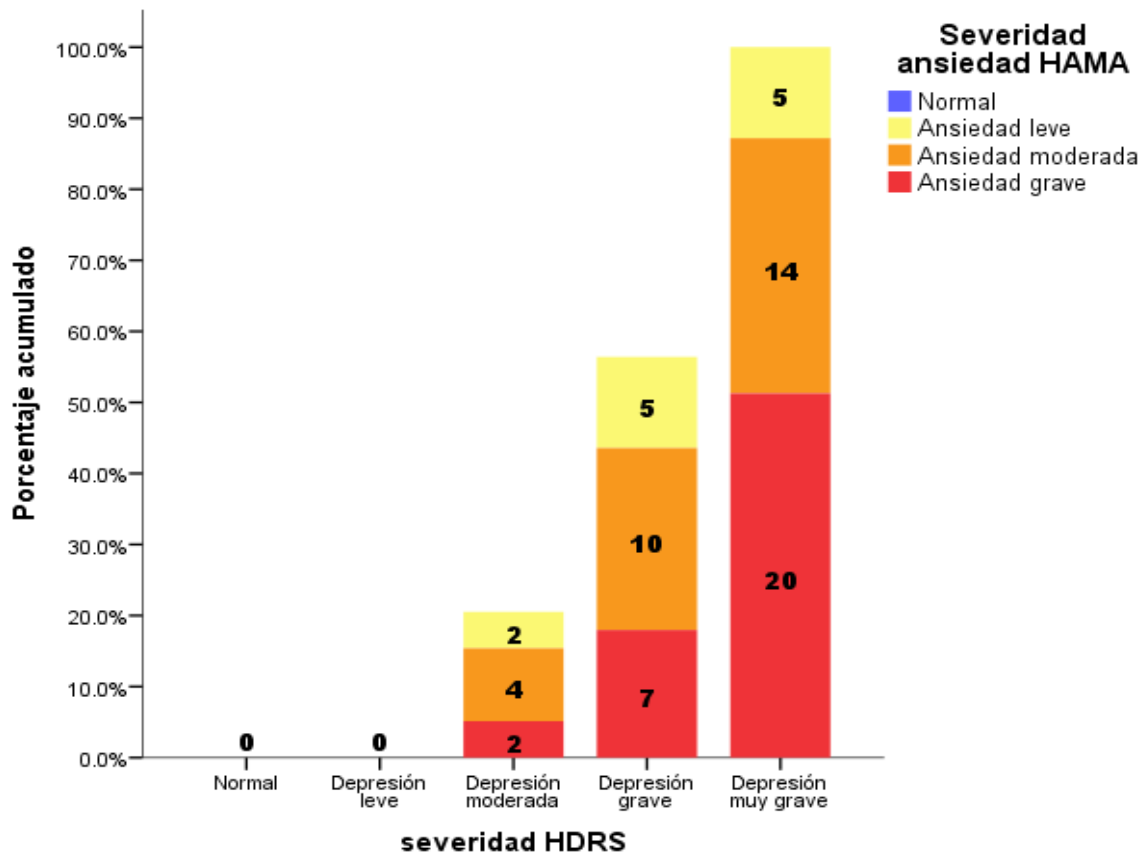


Fig. 17. Frecuencia de los diferentes grados de ansiedad (determinada por HAMA) en pacientes con TDM, contrastado por gravedad del trastorno depresivo (de acuerdo a puntaje de HDRS)

V. C. ANÁLISIS MOLECULAR DE LAS MUESTRAS

EXTRACCIÓN DE RNA

- 12) Tras realizar el proceso de extracción de células mononucleares de sangre periférica por el proceso descrito en metodología (128), se procedió a la extracción de RNA, la cual se llevó a cabo por el método estandarizado de Trizol® (154), usando la centrifugación por gradiente de densidad descrito anteriormente. Posteriormente se determinó la concentración de RNA y la absorbancia a 260 y 280nm en un espectrofotómetro NanoDrop®, para descartar la contaminación con fenol, proteínas, fenol y demás sustancias con absorbancia próxima a 280 nm, obteniéndose un valor promedio en la relación A260/280nm de 1.8794 (valores óptimos 1.8 a 2.0).
- 13) En promedio se obtuvo una concentración de RNA de 592.11 µg/ml en controles (DS 271.45, IC95% 419.64 - 764.58), 535.25 µg/ml en pacientes (DS 398.63, IC95% 406.03 – 664.47) y 349.17 µg/ml en pilotos aviadores (DS 152.92, IC95% 383.08 - 480.81). Se realizó prueba de homogeneidad de varianzas con estadístico de Levene descartando la homocedasticidad [$F(2,125)=6.752$, $p<0.002$], la ANOVA de un factor mostró diferencias significativas de la concentración de RNA entre los grupos analizados ($F=8.984$, $g_{inter}=2$, $g_{intra}=125$, $p< 0.05$). Las comparaciones múltiples post hoc no paramétricas mostraron diferencia en la concentración de RNA entre los pilotos aviadores y los controles (T2 de Tamhane $p = 0.032$), así como entre pilotos aviadores y pacientes con TDM (T2 de Tamhane $p= 0.023$). No hubo diferencia entre los controles y los pacientes ($p= 0.925$) (**Fig. 18**).

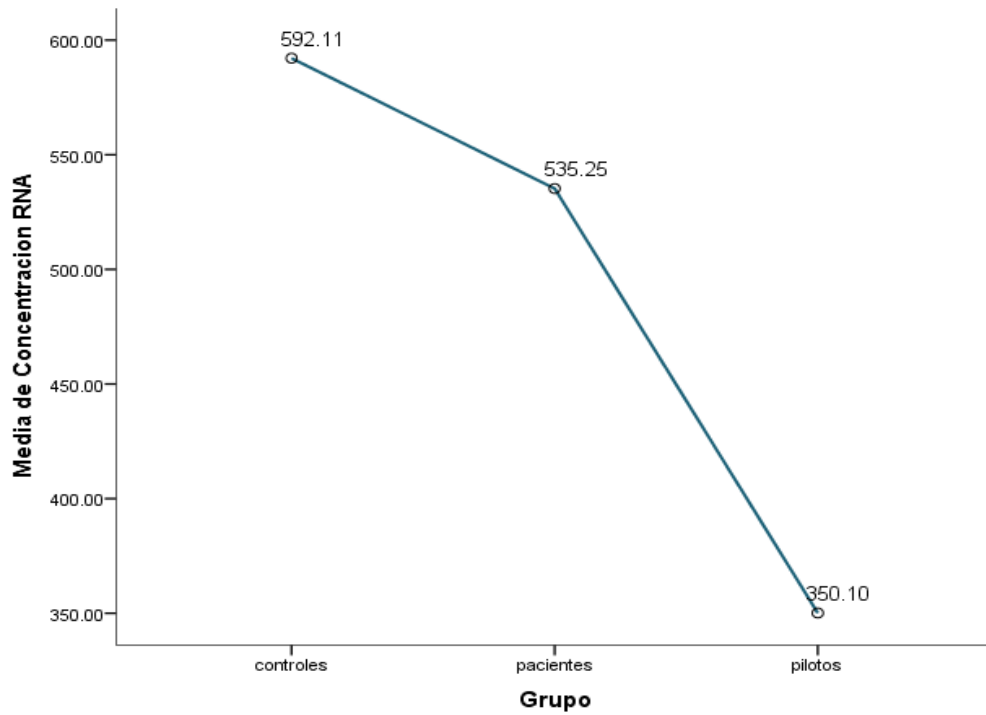


Fig. 18. Concentración promedio de RNA por grupos

14) Se realizó electroforesis en geles de agarosa al 2% teñidos con intercalador de ácidos nucleicos, mostrando la integridad del RNA extraído en todas las muestras, se utilizó como referencia de integridad la subunidades ribosomales 28s y 18s (**Fig. 19**).

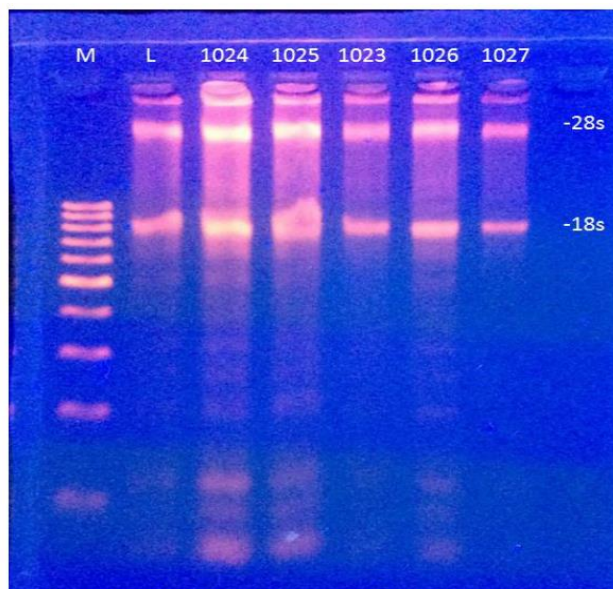


Fig. 19. Gel de integridad de RNA.

RETROTRANSCRIPCIÓN ACOPLADA A PCR (RT-PCR)

15) Se verificó la síntesis de cDNA a partir de 1 µg de RNA total por RT-PCR (PCR reverso o retrotranscripción acoplada a PCR), mediante la amplificación de un fragmento del gen codificante de β-actina (*ACTB*) por PCR punto final y posterior electroforesis en gel de agarosa al 2%, marcado con un colorante fluorescente de ácidos nucleicos (GelRed®) (**Fig. 20**).

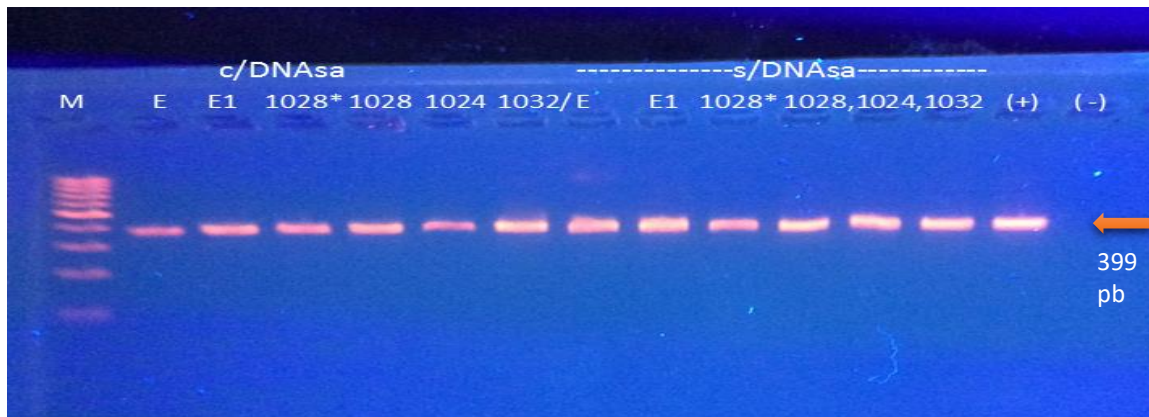


Fig. 20. Gel de agarosa para verificar la amplificación de *ACTB*. La flecha señala el tamaño de las bandas generadas, de 399 pb. Las muestras del lado izquierdo fueron sometidas a tratamiento con DNAsa, las muestras del lado derecho no, sin embargo, no se apreciaron diferencias entre ambos métodos.

PCR TIEMPO REAL (qPCR)

16) Las curvas estándar de concentración de ADN, reportaron el valor de intercept que refleja sensibilidad de la prueba y corresponde al valor de Ct para una única copia fue el esperado (cercano a 40). El valor de R^2 que se utiliza para evaluar el ajuste de la curva estándar a los puntos de datos trazados fue muy cercano a 1 reflejando un buen ajuste. El valor de Slope se usó para el cálculo de la eficiencia del sistema de análisis $E = 10(-1/\text{slope}) - 1 \times 100$, obteniendo una eficiencia alrededor de 100% ($E_{HTR1A} = 97.07$, $E_{SLC6A4} = 96.96$, $E_{S100A10} = 97.05$ y $E_{ACTB} = 97.23$) (**Fig. 21**).

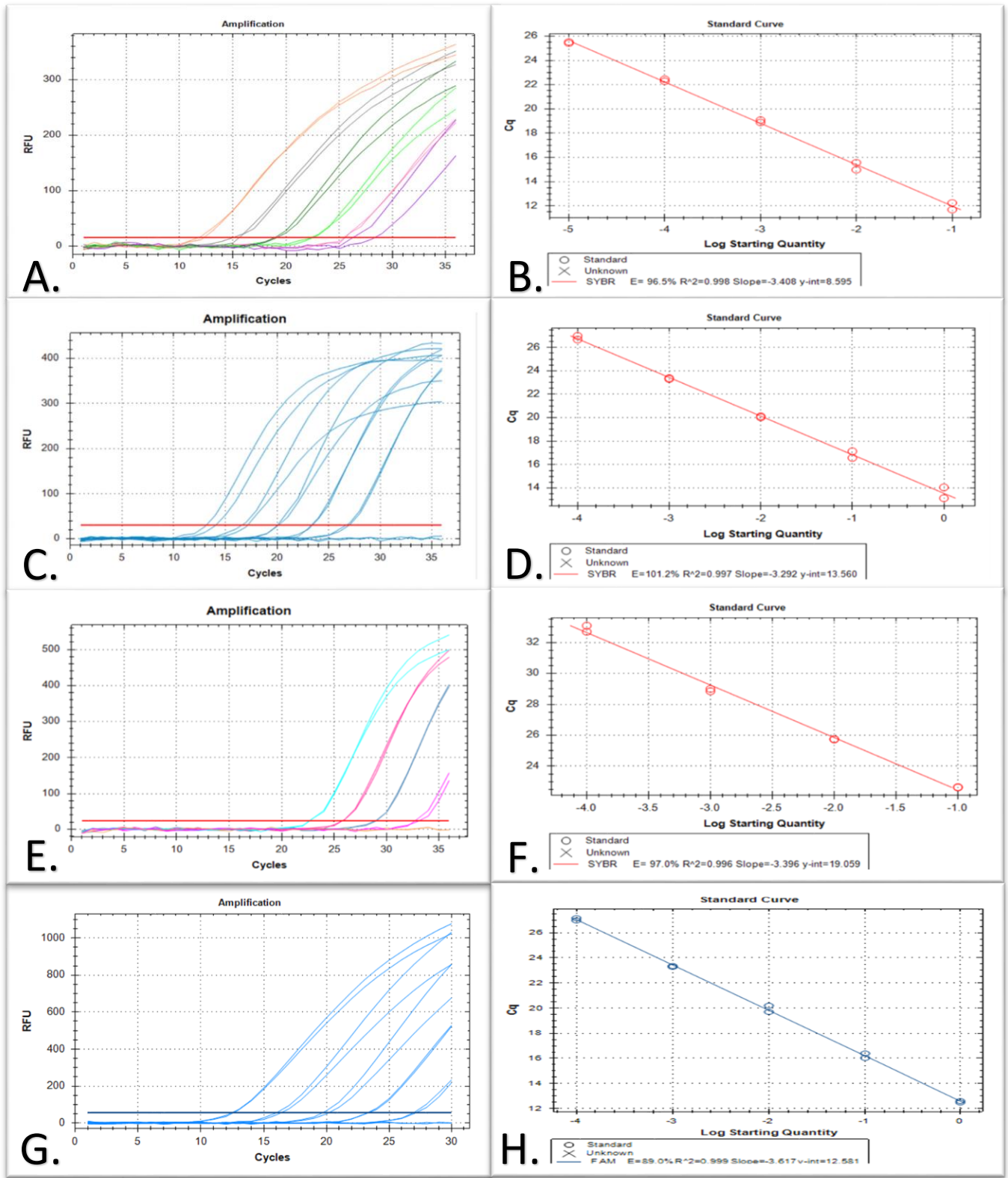


Fig. 21. A. Gráfico de amplificación para *HTR1A*. B. Curva de estandarización por PCR tiempo real del gen *HTR1A* en una dilución 1:1000. C. Gráfico de amplificación para *SLC6A4*. D. Curva de estandarización por PCR tiempo real del gen *SLC6A4* en una dilución 1:100. E. Gráfico de amplificación para *S100A10*. F. Curva de estandarización por PCR tiempo real del gen *S100A10* en una dilución 1:100. G. Gráfico de amplificación para *ACTB*. H. Curva de estandarización por PCR tiempo real del gen *ACTB* en una dilución 1:100.

17) Se efectuó análisis de PCR tiempo real para los 3 genes de interés y el constitutivo por triplicado para cada una de las muestras. Al analizar los datos se encontró ausencia de amplificación para el gen *HTR1A* en todos los ensayos, por lo que se analizaron únicamente los datos para *SLC6A4* y *S100A10*.

ANÁLISIS DE EXPRESION RELATIVA DE LOS GENES DE INTERÉS

18) Se analizó el cociente Ct_{SLC6A4} / Ct_{ACTB} en 10 sujetos control cuyo valor promedio fue 1.62 (DS 0.096, IC95% 1.548 - 1.685), 32 pacientes con TDM con valor promedio de 1.32 (DS 0.164, IC95% 1.262 - 1.381) y 76 pilotos aviadores con valor promedio de 1.31 (DS 0.205, IC95% 1.265 - 1.359). Se realizó una prueba de distribución de los datos obtenidos Shapiro-Wilk, descartando una distribución normal en el grupo de pacientes ($W= 0.924$, $gl= 32$, $p= 0.027$) y pilotos aviadores ($W= 0.963$, $gl= 76$, $p= 0.025$). Al realizar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis se encontraron diferencias en el cociente de expresión relativa entre los sujetos control y los pacientes con TDM ($H= 51.344$, $p<0.05$), así como entre los sujetos control y los pilotos aviadores ($H= 49.026$, $p<0.05$), mientras que no hubo diferencias significativas entre los pilotos aviadores y los pacientes ($H= -2.317$, $p= 0.748$) (**Fig. 22**).

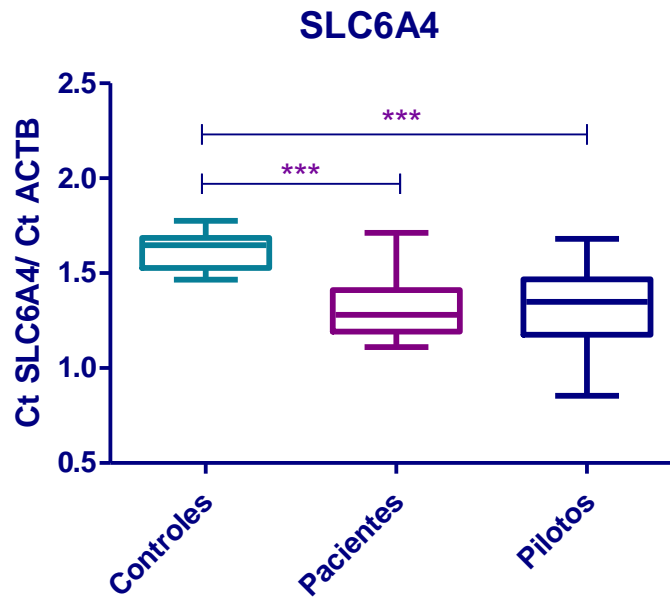


Fig. 22. Cociente Ct_{SLC6A4} / Ct_{ACTB} por grupos

19) Se analizó el cociente $Ct_{S100A10}/Ct_{ACTB}$ en 12 sujetos control, cuyo valor promedio fue 1.0 (DS 0.059, IC95% 0.99 - 1.1), 39 pacientes con TDM con valor promedio de 0.91 (DS 0.087, IC95% 0.88 - 0.94) y 79 pilotos aviadores con valor promedio de 0.87 (DS 0.12, IC95% 0.84 - 0.89). Se realizó una prueba de distribución de los datos obtenidos Shapiro-Wilk, que describió una distribución normal en los 3 grupos (pacientes $W=0.965$, $gl=39$, $p=0.260$), pilotos aviadores $W=0.981$, $gl=79$, $p=0.277$ y controles $W=0.949$, $gl=12$, $p=0.620$). Se realizó prueba de homogeneidad de varianzas con estadístico de Levene descartando la homocedasticidad [$F(2,127)=3.986$, $p=0.021$], la ANOVA de un factor mostró diferencias significativas en el cociente de expresión relativa entre los grupos analizados ($F=12.290$, $gl_{inter}=2$, $gl_{intra}=127$, $p<0.05$), específicamente entre los pilotos aviadores y los controles (T2 de Tamhane $p<0.05$), así como entre controles y pacientes con TDM (T2 de Tamhane $p<0.05$). No hubo diferencia entre los pilotos aviadores y los pacientes con TDM (T2 de Tamhane $p=0.131$) (Fig. 23).

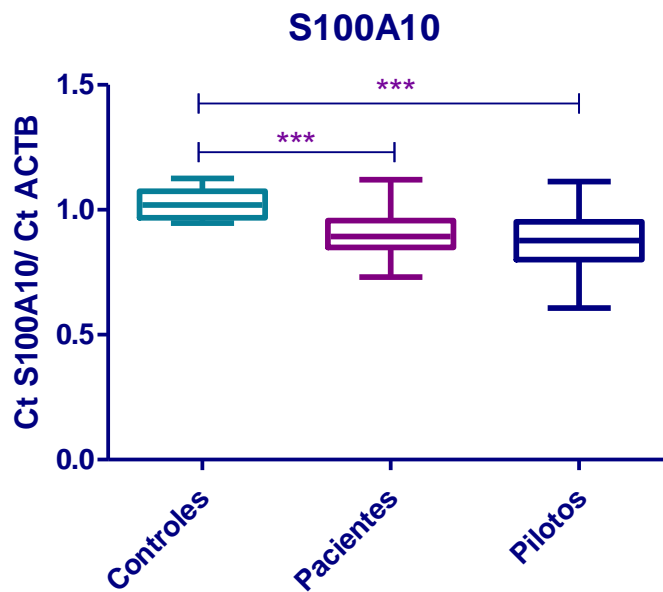


Fig. 23. Cociente $Ct_{S100A10}/Ct_{ACTB}$ por grupos

Al asumir un valor de eficiencia de amplificación similar entre el gen blanco *ACTB* y los genes de interés *HTR1A*, *SLC6A4* y *S100A10*, se procedió a efectuar el ensayo de expresión génica por cuantificación relativa mediante el método (141):

$$2^{-\Delta Ct} = [2^{-(Ct \text{ de gen blanco} - Ct \text{ de gen de interés})}]$$

20) La expresión de *SLC6A4* se encontró aumentada con respecto al gen constitutivo *ACTB* en pacientes y controles (77.41 veces aumentada en pacientes y 4725 veces aumentada en controles), mientras que la expresión de *S100A10* con respecto al gen constitutivo *ACTB* se encontró 32.07 veces disminuida en pacientes y 1.08 veces aumentada en controles (**Tabla 14**).

Tabla 14. Cuantificación relativa de *SLC6A4* y *S100A10* por grupos

GRUPO	GEN	2 ^{^-dT}	IC 95% (min – max)	FC (veces cambio)	Expresión génica
Pacientes	<i>SLC6A4</i>	0.01291815	0.00538108 - 0.02045522	-77.41046672	77.41 veces aumentada*
Pacientes	<i>S100A10</i>	32.07183751	5.43777819 - 58.70589683	32.07183751	32.07 veces reducida*
Pilotos	<i>SLC6A4</i>	1.78813242	-0.53968338 - 4.11594822	1.78813242	1.79 veces reducida
Pilotos	<i>S100A10</i>	3420.20087301	-580.89715568 - 7421.29890170	3420.20087301	3420.20 veces reducida
Controles	<i>SLC6A4</i>	0.00021164	0.00006230 - 0.00036098	-4724.998544	4725 veces aumentada*
Controles	<i>S100A10</i>	0.92518072	0.45845325 - 1.39190818	-1.080869914	1.08 veces aumentada*

*diferencia significativa

21) Al realizar la comparación de las medias de 2^{^-ΔCt} entre los 3 grupos, se encontró que los niveles de expresión génica de *SCL6A4* fueron 8448.93 veces mayores en pilotos aviadores en comparación con los sujetos control y 61.04 veces mayores en pacientes con TDM en relación con los sujetos control. Mientras que los niveles de expresión de *S100A10* fueron 3696.79 veces mayores en pilotos aviadores con respecto a los sujetos control y 34.67 veces mayores en pacientes con TDM en comparación con los sujetos control.

Por otro lado, no hubo diferencias significativas en la expresión de los genes *SCL6A4* y *S100A10* entre pilotos aviadores y sujetos control (**Tabla 15**).

Tabla 15. Comparación de expresión relativa de *SCL6A4* y *S100A10* por grupos

Contraste	Gen	Comparación de medias	Estadístico Kruskal Wallis	Valor de p
Pilotos vs Controles	<i>SCL6A4</i>	8448.93413	-48.100	<0.05
Pacientes vs Controles	<i>SCL6A4</i>	61.0383198	-50.225	<0.05
Pilotos vs Pacientes	<i>SCL6A4</i>	138.420162	2.125	0.768
Pilotos vs Controles	<i>S100A10</i>	3696.7922	-53.064	<0.05
Pacientes vs Controles	<i>S100A10</i>	34.6654841	-44.455	<0.05
Pilotos vs Pacientes	<i>S100A10</i>	106.641875	-8.609	0.243

CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN

Esta investigación tuvo como propósito comparar los perfiles de expresión relativa de genes involucrados en la vía serotoninérgica en una muestra de pilotos aviadores, pacientes diagnosticados con trastorno depresivo mayor y sujetos control, además del objetivo secundario de conocer la frecuencia del trastorno depresivo mayor (TDM) y otras psicopatologías en una muestra de pilotos aviadores, mediante la entrevista psiquiátrica y la aplicación de escalas clinimétricas. A continuación, se discutirán los principales hallazgos.

A pesar de tener una cantidad considerable de participantes durante el periodo de Captación (146 pilotos, 66 pacientes y 39 controles), se descartó el 50% de la muestra (67 pilotos, 27 pacientes y 27 controles), la mitad de ellos por presentar enfermedades señaladas en los criterios de exclusión, de las que llama la atención la prevalencia alta de obesidad y síndrome metabólico; la otra mitad se descartó durante el procesamiento de las muestras, lo que confirma la dificultad técnica de trabajar con RNA. Se podría objetar que el tamaño de la muestra, sobre todo los controles sanos, podría limitar la interpretación de los hallazgos, sin embargo, los estudios previos de expresión de genes asociados al TDM generalmente incluyen muestras pequeñas (103,145,147,148,152,153).

De manera semejante al punto anterior, podría objetarse la diferencia en la distribución por sexo entre los 3 grupos estudiados, al respecto cabe señalar, que la diferencia es más marcada entre los pacientes con TDM con una mayoría de mujeres y los pilotos aviadores con una mayoría de hombres y sin embargo, son estos grupos los que muestran un perfil de expresión genética similar, además, en estudios previos, ni pacientes con TDM ni controles muestran diferencias significativas en los niveles de expresión del mRNA de SERT por sexo (14).

Pese a que los criterios de inclusión contemplaron edades desde los 18 hasta los 64 años, en términos de edad, no hubo diferencias significativas entre los tres grupos, que pudieran influir sobre los valores de expresión génica, debido a las alteraciones en los mecanismos epigenéticos que son evidentes durante el envejecimiento (156).

Se observó que la prevalencia por estado civil fue distinta en los tres grupos de estudio, esto es importante, ya que estudios previos han relacionado el estado civil con el estado de bienestar, siendo las personas casadas las que cuentan con un mejor estado de salud, mientras que las personas divorciadas generalmente presentan más problemas psicológicos (157), por otro lado, hay que tener en cuenta que esas diferencias no están dadas exclusivamente por el estado civil, sino por la interacción de una persona con la contraparte (158).

Otro factor socioeconómico de riesgo para el desarrollo de síntomas depresivos son los ingresos bajos, ya que incrementan la ansiedad, además de que es menos probable que puedan acceder a los servicios de salud necesarios para mantener su salud física y mental (157), en este sentido, no se encontraron pilotos que tuvieran un nivel socioeconómico bajo, una debilidad del trabajo es que no se obtuvo la información en los otros grupos de estudio, para realizar un análisis de correlación.

Otra información adicional que se obtuvo del grupo de pilotos aviadores fue la escolaridad y el número de horas de vuelo, llama la atención el alto nivel educativo que es inversamente proporcional al riesgo de tener depresión (157), sin embargo un 12.66% cursó hasta nivel preparatoria y reporta menos de 2000 horas de vuelo, esa cifra representa a los estudiantes para pilotos aéreos, que fueron incluidos en el estudio, los cuales, si bien aún no tienen el estrés propio de los pilotos ya experimentados, también se encuentran sometidos a varias fuentes de estrés (44), por lo que se consideró incluirlos en el estudio.

Se propuso conocer la frecuencia del trastorno depresivo mayor (TDM) y otras psicopatologías en una muestra de pilotos aviadores, al respecto, ninguno de ellos fue diagnosticado con TDM ni con otro trastorno mental durante la evaluación psicológica auxiliada con el uso de pruebas clinimétricas, se resalta esta observación, debido a que la captación de los participantes fue al azar durante dos años y si la prevalencia del trastorno depresivo en México para un periodo de 12 meses se estima en 5.8% en hombres y 9.5% en mujeres (34), se esperaba haber detectado al menos 8 casos de los 146 pilotos aviadores captados en el presente estudio, esto nos puede indicar que el TDM está subdiagnosticado en los pilotos aviadores por los métodos actuales de detección, debido en gran parte, por el estigma y las consecuencias laborales para el personal. Incluso en el grupo control se encontró un participante con un puntaje de 8 en HAMA (ansiedad leve) y de 10 en HDRS (depresión leve), el cual fue evaluado mediante entrevista psiquiátrica tras la que se descartaron los diagnósticos de TDM y ansiedad generalizada. Por otro lado, hay

que recalcar que en el grupo de pacientes con TDM la mayoría tenía depresión muy grave, seguida de grave y moderada acorde a los puntajes del HDRS, a pesar de esta diferencia en el puntaje de las escalas clinimétricas entre pacientes y pilotos, el perfil de expresión génica es más similar entre estos dos grupos, lo que reafirma la hipótesis de que los pilotos aviadores podrían estar subdiagnosticados. La ansiedad fue una característica importante en los pacientes con TDM. Acorde a la correlación no paramétrica Tau b de Kendall, hubo una correlación positiva entre la severidad del TDM determinada por HDRS y la gravedad de la ansiedad determinada por HAMA

Por lo que se refiere a la conveniencia del uso de PBMC en este estudio, hay que recalcar que además de la facilidad de extracción y manejo en comparación de otras células como las neuronas, las células sanguíneas comparten más del 80% del transcriptoma con otros tejidos, incluido el cerebro, con quien comparte genes codificantes para receptores o transportadores de neurotransmisores, mediadores de estrés, citocinas, factores de crecimiento, etc. (18), lo que las hace un modelo ideal para el estudio de desórdenes psiquiátricos. Se ha descrito que las variaciones en el número y composición de las células sanguíneas pueden afectar los niveles de expresión génica (147), se ha atribuido la mayor parte de este ruido a los reticulocitos, que a pesar de no tener núcleo, contribuyen con el 70% del mRNA de la sangre total y aunado a ello, el mRNA de la globina atenúa las señales de otros transcritos influyendo sobre el resultado final (153), sin embargo, en este estudio se realizó un proceso para remover los reticulocitos, lo que redujo de forma considerable la interferencia, además de excluir del estudio a los participantes con trastornos de tipo inmunológico o con algún estado proinflamatorio como los procesos infecciosos, el síndrome metabólico, la obesidad y otras enfermedades crónico degenerativas no controladas, incrementando el poder de la investigación.

Un reto enfrentado en esta investigación, fue la obtención, almacenamiento y transporte de las PBMC en diferentes condiciones: las del Laboratorio Clínico de SCAM y las del Laboratorio de Psicoimmunología en el INPRFM, se observó ciertamente una menor concentración de RNA extraído de las muestras de pilotos aviadores (RNA 592.11 $\mu\text{g/ml}$ en controles, 535.25 $\mu\text{g/ml}$ en pacientes y 349.17 $\mu\text{g/ml}$ en pilotos aviadores), sin diferencias entre los controles y los pacientes ($p= 0.925$), que podría coincidir con el hecho de que dichas muestras fueron obtenidas y procesadas en el Laboratorio de Psicoimmunología. A pesar de estos hallazgos, la concentración de RNA no afectó en los resultados finales, ya

que se realizó una cuantificación relativa de cada muestra con respecto al gen de referencia de la misma muestra.

En cuanto a análisis molecular, cabe recalcar que este proyecto se enfocó en los genes que en la literatura se han reportado con variaciones en el RNA mensajero o en la concentración del producto proteínico asociados al trastorno depresivo mayor.

Es importante mencionar que se determinó el cociente de expresión de los genes *SLC6A4* y *S100A10* con respecto al gen *ACTB*, en pacientes con TDM, pilotos aviadores y sujetos control, éste cálculo no se reporta frecuentemente en la literatura (139), hay algunos trabajos en los cuales se calcula un cociente de expresión del gen blanco sobre un gen constitutivo, a través de la medición de la intensidad de las bandas en un gel de electroforesis, tras realizar RT-PCR, con un software que lo traduce a densidad óptica (142). El cálculo de cocientes de expresión nos permitió observar gráficamente la relación entre los valores de Ct de los genes blanco con respecto a los valores de Ct del gen endógeno (139), recordando que el valor de Ct es inversamente proporcional a la cantidad de cDNA y por lo tanto, de RNA presente en la muestra analizada (146), se deduce que a mayor cociente hay una menor expresión del gen blanco.

En el presente estudio, los cocientes de expresión *SLC6A4/ACTB* y *S100A10/ACTB*, fueron significativamente mayores en sujetos control, con respecto a los pacientes con TDM, lo que significa que la expresión de los genes *SLC6A4* y *S100A10* se encontró incrementada en los pacientes con respecto a los sujetos control. Dicha observación fue confirmada al comparar las medias del valor de $2^{-\Delta Ct}$ (141), confirmando la expresión relativa mayor de *SCL6A4* y *S100A10* en pacientes con TDM en comparación con los sujetos control. En la literatura se ha reportado una expresión incrementada de *SLC6A4* en pacientes con TDM con respecto a los controles (14,147), mientras que la expresión de *S100A10* en pacientes con TDM con respecto a controles ha sido reportada como incrementada por unos estudios (103,148) y como regulada a la baja por otros (97,149).

En la hipótesis de trabajo, se planteó que en el grupo de pilotos aviadores se encontrarían algunas muestras con un perfil de expresión similar al observado en los pacientes, lo que se encontró fue que el grupo de pilotos aviadores se comportó significativamente diferente al grupo de sujetos control, mostrando más semejanza con el grupo de pacientes con TDM. Los cocientes de expresión Ct_{SLC6A4}/Ct_{ACTB} y $Ct_{S100A10}/Ct_{ACTB}$ fueron mayores en el grupo de controles sanos con respecto a pacientes con TDM y pilotos

aviadores, en consonancia con el hallazgo anterior, la cuantificación relativa, determinada como $2^{-\Delta Ct}$, mostró una expresión de *SCL6A4* y *S100A10* mayor en pacientes y pilotos con respecto a los controles sanos.

Se ha hipotetizado que los niveles incrementados de mRNA de SERT (codificado por *SLC6A4*) pueden estar asociados al aumento de degradación o internalización de los receptores de serotonina, lo que se confirma por los estudios de PET en cerebro realizados en pacientes con TDM (14). Por otro lado, la proteína P11 (codificada por *S100A10*), miembro de la familia S-100, está relacionada con BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro) y participa en la regulación del ciclo celular, por lo que las diferencias en su expresión son un reflejo de la alteración en la neuroplasticidad asociada al TDM (18), los resultados contradictorios acerca de la expresión de *S100A10* podrían explicarse por la presencia de estrés, estudios que han abarcado pacientes con estrés postraumático y pacientes con TDM, han encontrado una expresión disminuida en los primeros e incrementada en los segundos, esto debido a que las hormonas del estrés regulan a la baja la expresión del mRNA de P11, mientras que la sobreexpresión de *S100A10* incrementa el número de receptores de serotonina 5-HT1B en la superficie celular y potencia su función (148,149). Esta modulación de los receptores de serotonina por parte de P11 podrían ser la razón por la que se ha asociado la expresión del mRNA de P11 con el riesgo de suicidio, incluso considerándose un potencial biomarcador para identificar dicho riesgo en pacientes con TDM y otros desórdenes mentales (103).

No se puede asegurar que la mayoría de los pilotos aviadores padecía TDM por lo observado en su perfil de expresión génica, sin embargo, valdría la pena escudriñar los factores en común entre pacientes con TDM y pilotos aviadores, sería conveniente valorar la reactividad al estrés por medio de la aplicación de la Escala de Estrés Percibido (EEP) que mide la respuesta psicológica ante eventos estresantes (150), así como un test de estrés laboral, como el elaborado por el IMSS adaptado del Cuestionario de Problemas Psicosomáticos (CPP) (151).

Un resultado negativo fue la ausencia de amplificación del gen *HTR1A*, si bien, hay estudios previos que reportan una expresión disminuida del receptor 5-HTR1a en linfocitos de sangre periférica en pacientes con TDM, sobre todo en las CD4+CD25+ (142) y otros ensayos en modelos animales de depresión donde confirman cambios en la expresión de *Htr1a* (143), existe también el precedente de la ausencia de amplificación de *HTR1A* en células T humanas en reposo, ya que el receptor solo se expresa en linfocitos T activados

y en células de Jurkat que son una línea celular inmortalizada de linfocitos T, que, por lo tanto, se encuentran en mitosis (144), del mismo modo, se ha encontrado que los antagonistas del receptor 5HT1 inhiben la proliferación de las células T elevando los niveles intracelulares de AMP cíclico (145). En este estudio, un criterio de exclusión para los tres grupos analizados fueron los procesos proinflamatorios, lo que podría explicar la ausencia de expresión de *HTR1A*.

CONCLUSIONES

El presente estudio confirma que la expresión génica periférica, obtenida en PBMC, es relevante en la búsqueda de un biomarcador diagnóstico de TDM en poblaciones en riesgo, como los pilotos aviadores. Sin embargo, existen aún varias limitaciones para hacer uso de éste de forma rutinaria.

Los niveles de expresión de *SLC6A4* y *S100A10* fueron significativamente mayores en pacientes con TDM y pilotos aviadores con respecto a los sujetos control. Los perfiles de expresión de dichos genes asociados al TDM, fueron similares entre el grupo de pilotos aviadores y el grupo de pacientes con TDM, superando lo esperado en la hipótesis del estudio, por lo que habría que analizar los factores comunes en ambos grupos, si bien, el trastorno depresivo mayor es un desorden clínica, biológica y genéticamente heterogéneo, valdría la pena profundizar en el estrés.

Ningún piloto aviador fue diagnosticado con trastorno depresivo, trastorno de ansiedad ni algún otro desorden psiquiátrico en la valoración psicológica, lo que puede indicar que es un grupo de riesgo subdiagnosticado, que es necesario robustecer los métodos de detección de dichas patologías en la DGPMPT, o bien, podría indicar una alteración a nivel molecular que precede a la manifestación clínica y nos reafirma la necesidad de continuar investigando los potenciales biomarcadores para el TDM.

Dadas las limitaciones tanto del presente estudio, como en los previos de expresión génica en TDM, aún no pueden ser considerados como biomarcadores diagnósticos, se requieren más estudios y la validación del método para reducir los sesgos.

ANEXOS

ANEXO 1. Pruebas clinimétricas

Anexo 1.a. Escala Neuropsiquiátrica Internacional

La escala Neuropsiquiátrica Internacional MINI es una entrevista diagnóstica estructurada de breve duración que explora los principales trastornos psiquiátricos del Eje I del DSM-IV y la CIE-10.

Módulos	Periodo explorado	Cumple los criterios	DSM-IV	CIE-10
A EPISODIO DEPRESIVO MAYOR (EDM)	Actual (2 semanas)	<input type="checkbox"/>	299.20-296.26 episodio único	F32.x
	Recidivante	<input type="checkbox"/>	296.30-296.36 recidivante	F33.x
EDM CON SÍNTOMAS MELANCÓLICOS (opcional)	Actual (2 semanas)	<input type="checkbox"/>	296.20-296.26 episodio único 296.30-296.36 recidivante	F32.x F33.x
B TRASTORNO DISTÍMICO	Actual (últimos 2 años)	<input type="checkbox"/>		
C RIESGO DE SUICIDIO	Actual (último mes)	<input type="checkbox"/>	300.4	F34.1
	Riesgo: <input type="checkbox"/> leve <input type="checkbox"/> moderado <input type="checkbox"/> alto	<input type="checkbox"/>		
D EPISODIO MANÍACO	Actual	<input type="checkbox"/>	296.00-296.06	F30.x-F31.9
	Pasado	<input type="checkbox"/>		
EPISODIO HIPOMANÍACO	Actual	<input type="checkbox"/>	296.80-296.89	F31.8-F31.9/F34.0
	Pasado	<input type="checkbox"/>	300.01/300.21	F40.01-F41.0
E TRASTORNO DE ANGUSTIA	Actual (último mes)	<input type="checkbox"/>		
	De por vida	<input type="checkbox"/>	300.22	F40.00
F AGORAFOBIA	Actual	<input type="checkbox"/>		
G FOBIA SOCIAL (<i>Trastorno de ansiedad social</i>)	Actual (último mes)	<input type="checkbox"/>	300.23	F40.1
H TRASTORNO OBSESIVO-COMPULSIVO	Actual (último mes)	<input type="checkbox"/>	300.3	F42.8
I ESTADO POR ESTRÉS POSTRAUMÁTICO (opcional)	Actual (último mes)	<input type="checkbox"/>	309.81	F43.1
J DEPENDENCIA DE ALCOHOL	Últimos 12 meses	<input type="checkbox"/>	303.9	F10.2x
ABUSO DE ALCOHOL	Últimos 12 meses	<input type="checkbox"/>	305.00	F10.1
K DEPENDENCIA DE SUSTANCIAS (no alcohol)	Últimos 12 meses	<input type="checkbox"/>	304.00-.90/305.20-.90	F11.1-F19.1
ABUSO DE SUSTANCIAS (no alcohol)	Últimos 12 meses	<input type="checkbox"/>	304.00-.90/305.20-.90	F11.1-F19.1
L TRASTORNOS PSICÓTICOS	De por vida	<input type="checkbox"/>	295.10-295.90/297.1	F20.xx-F29
	Actual	<input type="checkbox"/>	297.3/293.81/293.82 293.89/298.8/298.9	
TRASTORNO DEL ESTADO DEL ÁNIMO CON SÍNTOMAS PSICÓTICOS	Actual	<input type="checkbox"/>	296.24	F32.3/F33.3
M ANOREXIA NERVIOSA	Actual (últimos 3 meses)	<input type="checkbox"/>	307.1	F50.0
N BULIMIA NERVIOSA	Actual (últimos 3 meses)	<input type="checkbox"/>	307.51	F50.2
ANOREXIA NERVIOSA TIPO COMPULSIVA/PURGATIVA	Actual	<input type="checkbox"/>	307.1	F50.0
O TRASTORNO DE ANSIEDAD GENERALIZADA	Actual (últimos 6 meses)	<input type="checkbox"/>	300.02	F41.1
P TRASTORNO ANTISOCIAL DE LA PERSONALIDAD (opcional)	De por vida	<input type="checkbox"/>	301.7	F60.2

Se han realizado estudios de validez y de confiabilidad comparando la MINI con el SCID-P para el DSM-III-R y el CIDI (una entrevista estructurada desarrollada por la Organización Mundial de la Salud para entrevistadores no clínicos para la CIE-10). Los resultados de estos estudios demuestran que la MINI tiene una puntuación de validez y confiabilidad aceptablemente alta, pero puede ser administrada en un período de tiempo mucho más breve (promedio de 18,7 ± 11,6 minutos, media 15 minutos) que los instrumentos mencionados. Puede ser utilizada por clínicos o entrevistadores no clínicos tras un entrenamiento más intenso.

Anexo 1.b. Inventario de Depresión de Beck

El inventario de Depresión de Beck (Beck Depression Inventory, BDI) cubre los síntomas incluidos por la Asociación Americana de Psiquiatría como criterios para diagnosticar un trastorno depresivo (124). Es un instrumento autoaplicado que evalúa la intensidad de la depresión a través de 21 reactivos, cada uno de los cuales presenta cuatro afirmaciones, graduadas según su intensidad de 0 (ausencia de síntomas) al 3 (síntomas severos) (125,126). La puntuación de los reactivos varía de 0 a 63 donde se considera una puntuación entre 0 y 9 dentro de la normalidad (127), 10 - 14 depresión leve; 15 - 24 depresión moderada; 25 - 29 depresión grave; y ≥ 30 depresión extrema (128).

Inventario de Depresión de Beck (BDI-2)

Nombre:..... Estado Civil..... Edad:..... Sexo.....
Ocupación..... Educación:..... Fecha:.....

Instrucciones: Este cuestionario consta de 21 grupos de afirmaciones. Por favor, lea con atención cada uno de ellos cuidadosamente. Luego elija uno de cada grupo, el que mejor describa el modo como se ha sentido las últimas dos semanas, incluyendo el día de hoy. Marque con un círculo el número correspondiente al enunciado elegido. Si varios enunciados de un mismo grupo le parecen igualmente apropiados, marque el número más alto. Verifique que no haya elegido más de uno por grupo, incluyendo el ítem 16 (cambios en los hábitos de Sueño) y el ítem 18 (cambios en el apetito)

1. **Tristeza**
0 No me siento triste.
1 Me siento triste gran parte del tiempo.
2 Me siento triste todo el tiempo.
3 Me siento tan triste o soy tan infeliz que no puedo soportarlo.
2. **Peimismo**
0 No estoy desalentado respecto del mi futuro.
1 Me siento más desalentado respecto de mi futuro que lo que solía estarlo.
2 No espero que las cosas funcionen para mí.
3 Siento que no hay esperanza para mi futuro y que solo puede empeorar.
3. **Fracaso**
0 No me siento como un fracasado.
1 He fracasado más de lo que hubiera debido.
2 Cuando miro hacia atrás, veo muchos fracasos.
3 Siento que como persona soy un fracaso total.
4. **Pérdida de Placer**
0 Obtengo tanto placer como siempre por las cosas de las que disfruto.
1 No disfruto tanto de las cosas como solía hacerlo.
2 Obtengo muy poco placer de las cosas que solía disfrutar.
3 No puedo obtener ningún placer de las cosas de las que solía disfrutar.
5. **Sentimientos de Culpa**
0 No me siento particularmente culpable.
1 Me siento culpable respecto de varias cosas que he hecho o que debería haber hecho.
- 2 Me siento bastante culpable la mayor parte del tiempo.
3 Me siento culpable todo el tiempo.
6. **Sentimientos de Castigo**
0 No siento que este siendo castigado.
1 Siento que tal vez pueda ser castigado.
2 Espero ser castigado.
3 Siento que estoy siendo castigado.
7. **Disconformidad con uno mismo.**
0 Siento acerca de mí lo mismo que siempre.
1 He perdido la confianza en mí mismo.
2 Estoy decepcionado conmigo mismo.
3 No me gusta a mí mismo.
8. **Autocrítica**
0 No me critico ni me culpo más de lo habitual.
1 Estoy más crítico conmigo mismo de lo que solía estarlo.
2 Me critico a mí mismo por todos mis errores.
3 Me culpo a mí mismo por todo lo malo que sucede.
9. **Pensamientos o Deseos Suicidas**
0 No tengo ningún pensamiento de matarme.
1 He tenido pensamientos de matarme, pero no lo haría.
2 Querría matarme.
3 Me mataría si tuviera la oportunidad de hacerlo.
10. **Llanto**
0 No lloro más de lo que solía hacerlo.
1 Lloro más de lo que solía hacerlo.
2 Lloro por cualquier pequeñez.
3 Siento ganas de llorar pero no puedo.
11. **Agitación**
0 No estoy más inquieto o tenso que lo habitual.
1 Me siento más inquieto o tenso que lo habitual.
2 Estoy tan inquieto o agitado que me es difícil quedarme quieto.
3 Estoy tan inquieto o agitado que tengo que estar siempre en movimiento o haciendo algo.
12. **Pérdida de Interés**
0 No he perdido el interés en otras actividades o personas.
1 Estoy menos interesado que antes en otras personas o cosas.
2 He perdido casi todo el interés en otras personas o cosas.
3 Me es difícil interesarme por algo.
13. **Indecisión**

- 0 Tomo mis propias decisiones tan bien como siempre.
 1 Me resulta más difícil que de costumbre tomar decisiones.
 2 Encuentro mucha más dificultad que antes para tomar decisiones.
 3 Tengo problemas para tomar cualquier decisión.
- 14. Desvalorización**
 0 No siento que yo no sea valioso
 1 No me considero a mí mismo tan valioso y útil como solía considerarme
 2 Me siento menos valioso cuando me comparo con otros.
 3 Siento que no valgo nada.
- 15. Pérdida de Energía**
 0 Tengo tanta energía como siempre.
 1. Tengo menos energía que la que solía tener.
 2. No tengo suficiente energía para hacer demasiado
 3. No tengo energía suficiente para hacer nada.
- 16. Cambios en los Hábitos de Sueño**
 0 No he experimentado ningún cambio en mis hábitos de sueño.
 1^a. Duermo un poco más que lo habitual.
 1b. Duermo un poco menos que lo habitual.
 2a. Duermo mucho más que lo habitual.
 2b. Duermo mucho menos que lo habitual
 3^a. Duermo la mayor parte del día
 3b. Me despierto 1-2 horas más temprano y no puedo volver a dormirme
- 17. Irritabilidad**
 0 No estoy tan irritable que lo habitual.
 1 Estoy más irritable que lo habitual.
 2 Estoy mucho más irritable que lo habitual.
 3 Estoy irritable todo el tiempo.
- 18. Cambios en el Apetito**
 0 No he experimentado ningún cambio en mi apetito.
 1^a. Mi apetito es un poco menor que lo habitual.
 1b. Mi apetito es un poco mayor que lo habitual.
 2a. Mi apetito es mucho menor que antes.
 2b. Mi apetito es mucho mayor que lo habitual
 3^a. No tengo apetito en absoluto.
 3b. Quiero comer todo el día.
- 19. Dificultad de Concentración**
 0 Puedo concentrarme tan bien como siempre.
 1 No puedo concentrarme tan bien como habitualmente
 2 Me es difícil mantener la mente en algo por mucho tiempo.
 3 Encuentro que no puedo concentrarme en nada.

- 20. Cansancio o Fatiga**
 0 No estoy más cansado o fatigado que lo habitual.
 1 Me fatigo o me canso más fácilmente que lo habitual.
 2 Estoy demasiado fatigado o cansado para hacer muchas de las cosas que solía hacer.
 3 Estoy demasiado fatigado o cansado para hacer la mayoría de las cosas que solía hacer.
- 21. Pérdida de Interés en el Sexo**
 0 No he notado ningún cambio reciente en mi interés por el sexo.
 1 Estoy menos interesado en el sexo de lo que solía estarlo.
 2 Estoy mucho menos interesado en el sexo.
 3 He perdido completamente el interés en el sexo.

Puntaje Total:

Anexo 1.c. Escala de Depresión de Hamilton

Escala heteroaplicada que consta de 21 reactivos (130,131), diseñada para evaluar cuantitativamente la gravedad de los síntomas asociados a la depresión en pacientes diagnosticados, así como para poder valorar sus cambios en respuesta al tratamiento (132).

Su versión original consta de 21 reactivos, aunque existen versiones de 17 y 6 reactivos debido al tiempo requerido para su correcta aplicación en la práctica clínica (30 min. aprox. la versión de 21 reactivos). El puntaje de la escala incluye principalmente los primeros 17 reactivos; de los cuales ocho se puntúan del 0 (ausente) al 4 (severo) y nueve se puntúan del 0 al 2. Los cuatro últimos reactivos miden factores que pueden estar relacionados a la depresión pero que no determinan gravedad, tales como paranoia y síntomas obsesivos y compulsivos (127). La puntuación total de la escala oscila entre 0 puntos (ausencia de síntomas depresivos) y 66 (síntomas depresivos graves) para la HDRS-21; de 0 a 54 para la HDRS-17, y de 0 a 22 para la HDRS-6 (132).

6.1.1. Escala de Hamilton para la Depresión (Hamilton Depression Rating Scale, HDRS)

Ítem	Criterios operativos de valoración
1. Humor deprimido (tristeza, depresión, desamparo, inutilidad)	0. Ausente 1. Estas sensaciones se indican solamente al ser preguntado 2. Estas sensaciones se relatan oral y espontáneamente 3. Sensaciones no comunicadas verbalmente, es decir, por la expresión facial, la postura, la voz y la tendencia al llanto 4. El paciente manifiesta estas sensaciones en su comunicación verbal y no verbal de forma espontánea
2. Sensación de culpabilidad	0. Ausente 1. Se culpa a sí mismo, cree haber decepcionado a la gente 2. Ideas de culpabilidad, o meditación sobre errores pasados o malas acciones 3. La enfermedad actual es un castigo, ideas delirantes de culpabilidad 4. Oye voces acusatorias o de denuncia y/o experimenta atenciones visuales amenazadoras
3. Suicidio	0. Ausente 1. Le parece que la vida no merece la pena ser vivida 2. Desearía estar muerto o tiene pensamientos sobre la posibilidad de morirse 3. Ideas de suicidio o amenazas 4. Intentos de suicidio (cualquier intento serio se califica 4)
4. Insomnio precoz	0. Ausente 1. Dificultades ocasionales para dormirse, por ejemplo, más de media hora 2. Dificultades para dormirse cada noche
5. Insomnio medio	0. Ausente 1. El paciente se queja de estar inquieto durante la noche 2. Está despierto durante la noche cualquier ocasión de levantarse de la cama se califica 2 (excepto si está justificado: orinar, tomar o dar medicación, etc.)
6. Insomnio tardío	0. Ausente 1. Se despierta a primeras horas de la madrugada pero vuelve a dormirse 2. No puede volver a dormirse si se levanta de la cama
7. Trabajo y actividades	0. Ausente 1. Ideas y sentimientos de incapacidad. Falta o debilidad relacionadas con su actividad, trabajo o aficiones 2. Pérdida de interés en su actividad, aficiones o trabajo, manifestado directamente por el enfermo o indirectamente por desatención, indecisión y vacilación 3. Disminución del tiempo dedicado a actividades o descanso en la productividad 4. Dejó de trabajar por la presente enfermedad
8. Inhibición (lentitud de pensamiento y de palabra, empeoramiento de la concentración, actividad motora disminuida)	0. Palabra y pensamiento normales 1. Ligero retraso en el diálogo 2. Evidente retraso en el diálogo 3. Diálogo difícil 4. Torpeza absoluta
9. Agitación	0. Ninguna 1. «Juego» con sus manos, cabellos, etc. 2. Se retuerce las manos, se rmeerda la uña, los labios, se tira de los cabellos, etc.
10. Ansiedad psíquica	0. No hay dificultad 1. Tensión subjetiva e irritabilidad 2. Preocupación por pequeñas cosas 3. Actitud aprensiva aparente en la expresión o en el habla 4. Títeres expresados sin preguntarle
11. Ansiedad somática	0. Ausente 1. Ligera 2. Moderada 3. Grave 4. Incapacitante Signos fisiológicos concomitantes de la ansiedad, como: • Gastrointestinales: boca seca, flatulencia, diarrea, eructos, retortijones • Cardiovasculares: palpitaciones, cambiadas • Respiratorias: hiperventilación, aturdimiento • Frecuencia urinaria • Sudoración
12. Síntomas somáticos gastrointestinales	0. Ninguno 1. Pérdida del apetito, pero come sin necesidad de que lo estimulen. Sensación de pesadez en el abdomen. 2. Dificultad en comer si no se le insiste. Solicita o necesita laxantes o medicación intestinal para sus síntomas gastrointestinales
13. Síntomas somáticos generales	0. Ninguno 1. Pesadez en las extremidades, espalda o cabeza. Dorsalgias, cefalalgias, rigido musculares. Pérdida de energía y fatigabilidad 2. Cualquier síntoma bien definido se califica 2
14. Síntomas genitales	0. Ausente 1. DNBH 2. Grave 3. Incapacitante Síntomas como: • Pérdida de la libido • Trastornos menstruales
15. Hipocondría	0. No la hay 1. Preocupado de sí mismo (corporalmente) 2. Preocupado por su salud 3. Se lamenta constantemente, solicita ayuda, etc. 4. Ideas delirantes hipocóndricas
16. Pérdida de peso (completar A o B)	A. Según manifestaciones del paciente (primera evaluación) 0. No hay pérdida de peso 1. Probable pérdida de peso asociada con la enfermedad actual 2. Pérdida de peso definida (según el enfermo) B. Según peso evaluado por el psiquiatra (evaluaciones siguientes) 0. Pérdida de peso inferior a 500 g en una semana 1. Pérdida de peso de más de 500 g en una semana 2. Pérdida de peso de más de 1 kg en una semana (por término medio)
17. Insight (conciencia de enfermedad)	0. Se da cuenta de que está deprimido y enfermo 1. Se da cuenta de su enfermedad pero atribuye la causa a la mala alimentación, clima, exceso de trabajo, virus, etc. 2. Niega que está enfermo

Anexo 1.d. Escala de Ansiedad de Hamilton

La escala de ansiedad de Hamilton (HAMA) consta de un total de 14 reactivos que evalúan los aspectos psíquicos, físicos y conductuales de la ansiedad. Proporciona una medida global de ansiedad que se obtiene sumando la puntuación obtenida en cada uno de los reactivos, el cual puede ir de 0 (ausente) a 4 (grave), con una puntuación total de 0 a 56 (125,133).

En la práctica clínica es común la dificultad para distinguir entre ansiedad y depresión, ya que algunos síntomas se superponen y muchos estados depresivos cursan con ansiedad y en general la ansiedad siempre predice peores resultados para el TDM, por ejemplo, episodios más largos, mayor tasa de recurrencia y función social deteriorada (135).

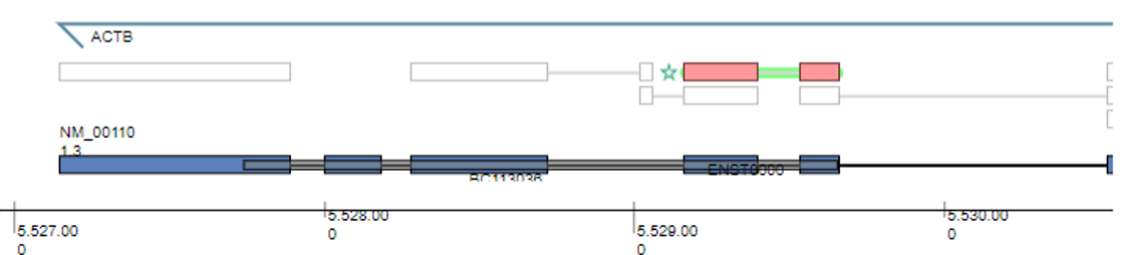
La HAM-A consta de un total de 14 reactivos, de los que 13 de ellos evalúan los aspectos psíquicos, físicos y conductuales de la ansiedad y el último valora el comportamiento del paciente durante la entrevista. Proporciona una medida global de ansiedad que se obtiene sumando la puntuación obtenida en cada uno de los reactivos, el cual puede ir de 0 (ausente) a 4 (grave), con una puntuación total de 0 a 56 (134).

El puntaje para determinar el grado de ansiedad es: normal (<6), leve (7–17), moderado (18–24) y grave (>24)(136). La escala de HAM-A muestra una buena consistencia interna (alfa de Cronbach de 0,79 a 0,86), una elevada validez concurrente con otras escalas que valoran ansiedad, como el Inventario de Ansiedad de Beck20 ($r = 0,56$), distingue adecuadamente entre pacientes con ansiedad y controles sanos (puntuaciones medias respectivas de 18,9 y 2,4) y posee un alto grado de correlación con la Escala de Depresión de Hamilton ($r = 0,62 - 0,73$) (134,137).

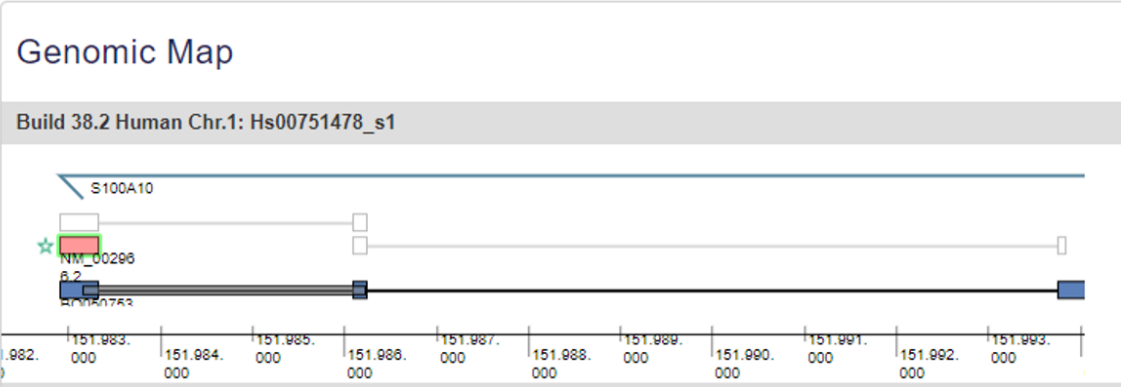
SÍNTOMAS DE LOS ESTADOS DE ANSIEDAD	Ausente	Leve	Moderado	Grave	Muy grave/ Incapacitante
1. Estado de ánimo ansioso. Preocupaciones, anticipación de lo peor, aprensión (anticipación temerosa), irritabilidad	0	1	2	3	4
2. Tensión. Sensación de tensión, imposibilidad de relajarse, reacciones con sobresalto, llanto fácil, temblores, sensación de inquietud.	0	1	2	3	4
3. Temores. A la oscuridad, a los desconocidos, a quedarse solo, a los animales grandes, al tráfico, a las multitudes.	0	1	2	3	4
4. Insomnio. Dificultad para dormirse, sueño interrumpido, sueño insatisfactorio y cansancio al despertar.	0	1	2	3	4
5. Intelectual (cognitivo) Dificultad para concentrarse, mala memoria.	0	1	2	3	4
6. Estado de ánimo deprimido. Pérdida de interés, insatisfacción en las diversiones, depresión, despertar prematuro, cambios de humor durante el día.	0	1	2	3	4
7. Síntomas somáticos generales (musculares) Dolores y molestias musculares, rigidez muscular, contracciones musculares, sacudidas clónicas, crujir de dientes, voz temblorosa.	0	1	2	3	4
8. Síntomas somáticos generales (sensoriales) Zumbidos de oídos, visión borrosa, sofocos y escalofríos, sensación de debilidad, sensación de hormigueo.	0	1	2	3	4
9. Síntomas cardiovasculares. Taquicardia, palpitaciones, dolor en el pecho, latidos vasculares, sensación de desmayo, extrasístole.	0	1	2	3	4
10. Síntomas respiratorios. Opresión o constricción en el pecho, sensación de ahogo, suspiros, disnea.	0	1	2	3	4
11. Síntomas gastrointestinales. Dificultad para tragar, gases, dispepsia: dolor antes y después de comer, sensación de ardor, sensación de estómago lleno, vómitos acuosos, vómitos, sensación de estómago vacío, digestión lenta, borborigmos (ruido intestinal), diarrea, pérdida de peso, estreñimiento.	0	1	2	3	4
12. Síntomas genitourinarios. Micción frecuente, micción urgente, amenorrea, menorragia, aparición de la frigidez, eyaculación precoz, ausencia de erección, impotencia.	0	1	2	3	4
13. Síntomas autónomos. Boca seca, rubor, palidez, tendencia a sudar, vértigos, cefaleas de tensión, piloerección (pelos de punta)	0	1	2	3	4
14. Comportamiento en la entrevista (general y fisiológico) Tenso, no relajado, agitación nerviosa: manos, dedos cogidos, apretados, tics, enrollar un pañuelo; inquietud; pasearse de un lado a otro, temblor de manos, ceño fruncido, cara tirante, aumento del tono muscular, suspiros, palidez facial. Tragar saliva, eructar, taquicardia de reposo, frecuencia respiratoria por encima de 20 res/min, sacudidas enérgicas de tendones, temblor, pupilas dilatadas, exoftalmos (proyección anormal del globo del ojo), sudor, tics en los párpados.	0	1	2	3	4

ANEXO 2. Sondas para los ensayos de PCR en tiempo real.

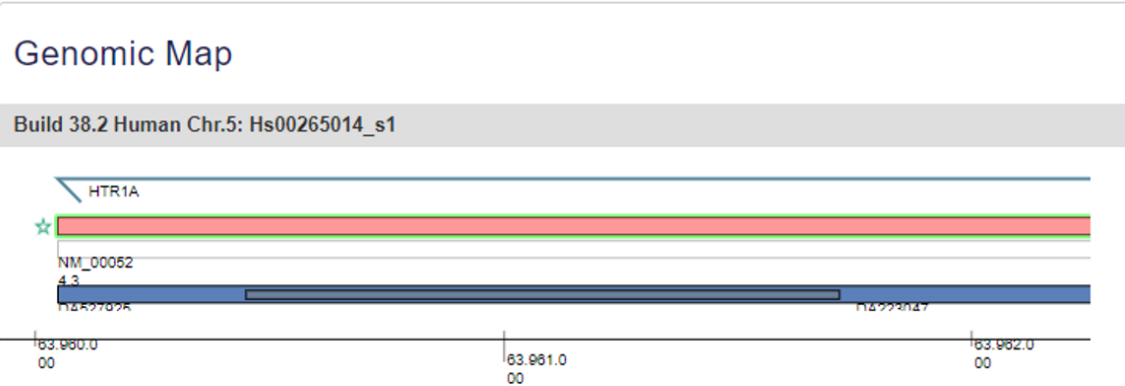
Anexo 2.a. Características de la sonda usada para el análisis de *ACTB*

Clave:	Hs01060665_g1	Gen Blanco:	actin beta
Especie:	Humano	Símbolo del gen:	<i>ACTB</i>
Tipo:	Sonda Taqman	Localización cromosómica	Chr.7: 5527148 - 5530601 on Build GRCh38
Secuencia de referencia del blanco (Ref Seq)	NM_001101.3		
Proteína traducida	NP_001092.1		
Sitio de unión de la sonda	Exón 2-3		
Localización inter ensayo	298		
Tamaño del amplicón	63 pb		
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Genomic Map</p> <p>Build 38.2 Human Chr.7: Hs01060665_g1</p>  <p>The genomic map displays the <i>ACTB</i> gene structure on human chromosome 7. The gene is represented by a blue line with several exons shown as boxes. A red star symbol marks the binding site of the Taqman probe, which is located between the second and third exons. The x-axis at the bottom indicates genomic coordinates in base pairs, ranging from 5,527,000 to 5,530,000. The probe binding site is specifically located between 5,528,000 and 5,529,000 bp.</p> </div>			
Fuente:	https://www.thermofisher.com/taqman-gene-expression/product/Hs01060665_g1?CID=&ICID=&subtype=		

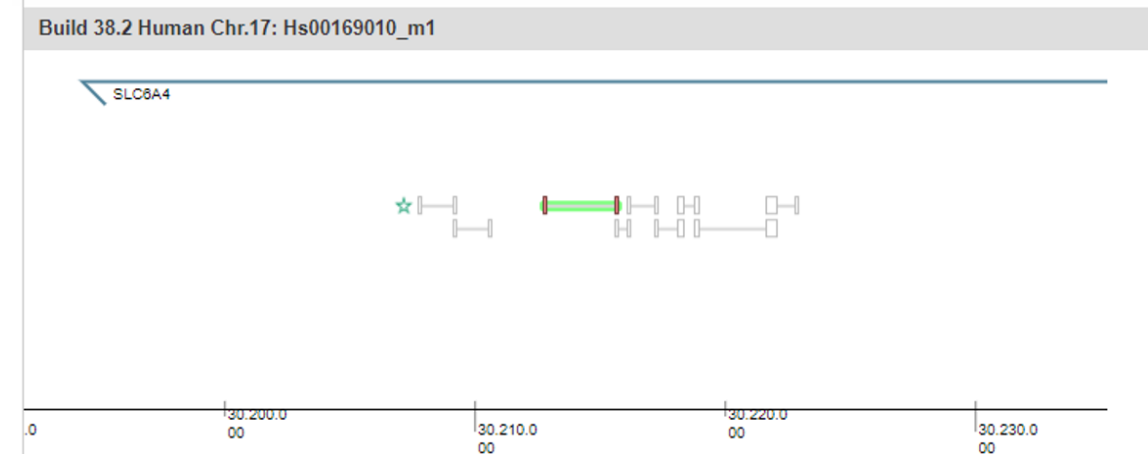
Anexo 2.b. Características de la sonda usada para el análisis de *S100A10*.

Clave:	Hs00751478_s1	Gen Blanco:	S100 calcium binding protein A10
Especie:	Humano	Símbolo del gen:	<i>S100A10</i>
Tipo:	Sonda Taqman	Localización cromosómica	Chr.1: 151982910 - 151994238 on Build GRCh38
Secuencia de referencia del blanco (Ref Seq)	NM_002966.2		
Proteína traducida	NP_002957.1		
Sitio de unión de la sonda	Exón 3		
Localización inter ensayo	951		
Tamaño del amplicón	113		
 <p>Genomic Map</p> <p>Build 38.2 Human Chr.1: Hs00751478_s1</p> <p>S100A10</p> <p>NM_002966</p> <p>Hs00751478_s1</p> <p>151.982.000 151.983.000 151.984.000 151.985.000 151.986.000 151.987.000 151.988.000 151.989.000 151.990.000 151.991.000 151.992.000 151.993.000</p>			
Fuente:	https://www.thermofisher.com/tagman-gene-expression/product/Hs00751478_s1?CID=&ICID=&subtype=		

Anexo 2.c. Características de la sonda usada para el análisis de *HTR1A*

Clave:	Hs00265014_s1	Gen Blanco:	5-hydroxytryptamine receptor 1A
Especie:	Humano	Símbolo del gen:	<i>HTR1A</i>
Tipo:	Sonda Taqman	Localización cromosómica	Chr.5: 63960048 – 63962292 on Build GRCh38
Secuencia de referencia del blanco (Ref Seq)	NM_000524.3		
Proteína traducida	NP_000515.2		
Sitio de unión de la sonda:	Exón 1		
Localización inter ensayo	733		
Tamaño del amplicón	75 pb		
 <p>Genomic Map</p> <p>Build 38.2 Human Chr.5: Hs00265014_s1</p> <p>HTR1A</p> <p>NM_000524.3</p> <p>63,960,000 63,961,000 63,962,000</p>			
Fuente:	https://www.thermofisher.com/taqman-gene-expression/product/Hs00265014_s1?CID=&ICID=&subtype=		

Anexo 2.d. Características de la sonda usada para el análisis de *SLC6A4*

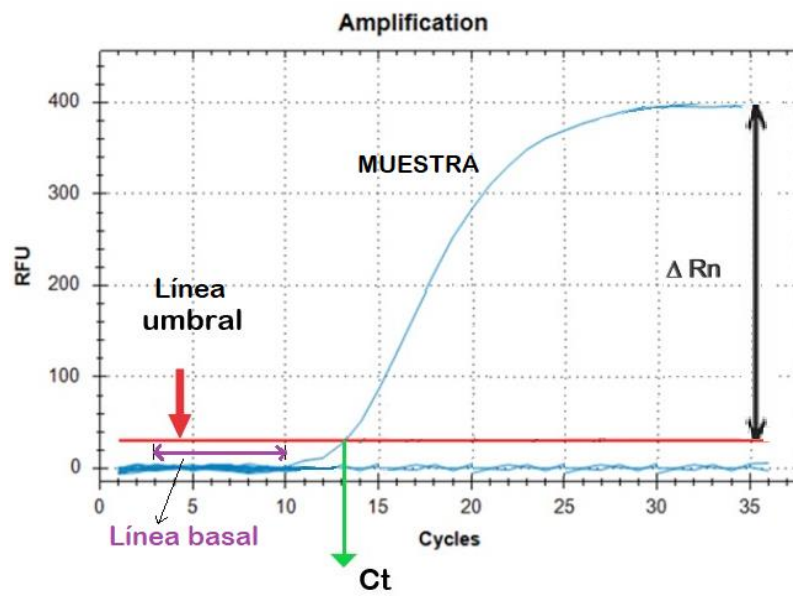
Clave:	Hs00169010_m1	Gen Blanco:	solute carrier family 6 member 4
Especie:	Humano	Símbolo del gen:	<i>SLC6A4</i>
Tipo:	Sonda Taqman	Localización cromosómica;	Chr.17: 30194319 - 30235968 on Build GRCh38
Secuencia de referencia del blanco (Ref Seq):	NM_001045.5		
Proteína traducida:	NP_001036.1		
Sitio de unión de la sonda:	Exón 8-exon 9		
Localización inter ensayo:	1652		
Tamaño del amplicón:	99 pb		
			
Fuente:	https://www.thermofisher.com/taqman-gene-expression/product/Hs00169010_m1?CID=&ICID=&subtype=		

ANEXO 3. PARÁMETROS DEL MÉTODO DE PCR EN TIEMPO REAL (qPCR)

Antes de llevar a cabo la qPCR, se realizaron ensayos para seleccionar el gen de referencia utilizado para el análisis, se seleccionó *ACTB* entre otros genes constitutivos probados, en función de su proximidad en la expresión en comparación con cada gen candidato.

Se amplificaron por PCR punto final los genes *SLC6A4*, *HTR1A*, y *S100A10* y el gen de referencia *ACTB* a partir del cDNA de una muestra control. Los templados fueron separados por gel de agarosa al 2%, marcado con un colorante fluorescente de ácidos nucleicos (GelRed®) y se seccionaron cuidadosamente las bandas para obtener el purificado, aprox. 250ng, para realizar las curvas de calibración para *SLC6A4*, *HTR1A*, *S100A10* y *ACTB*.

La reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) se basa en la detección de fluorescencia, permitiendo la cuantificación del producto en cada ciclo de PCR midiendo la intensidad de la señal fluorescente. Se usaron sondas de hidrólisis (Taqman®) marcadas con dos fluoróforos (reportero y apagador), que emiten la señal fluorescente cuando se unen a la secuencia blanco y se someten a hidrólisis por la ADN polimerasa. Habitualmente se determina el Ct, Cq o ciclo umbral, que es el ciclo durante el cual la emisión de la fluorescencia del reportero se distingue del ruido basal (alcanza el umbral), el Ct nos permite conocer la concentración de ADN blanco inicial, ya que es el logaritmo negativo de la concentración de la secuencia diana, es decir, a mayor concentración de ADN inicial, se requerirán menos ciclos para alcanzar el umbral (146).



Al finalizar la amplificación se calculó el ciclo umbral (Ct) de cada dilución, el ajuste de regresión entre el Ct y la dilución del ADN y la eficiencia global de la qPCR, a manera de obtener una curva con valor de $R^2 = 0.99$ en 5 diluciones seriadas 1:10.

REFERENCIAS

1. Widyahening, I. S. (2007). High level of work stressors increase the risk of mental-emotional disturbances among airline pilots. *Medical Journal of Indonesia*, 16(2), 117-21.
2. Cooper, C. L., & Sloan, S. (1985). Occupational and psychosocial stress among commercial aviation pilots. *Journal of Occupational Medicine*, 570-576.
3. Butcher, J. N. (2002). Assessing pilots with 'the wrong stuff': A call for research on emotional health factors in commercial aviators. *International Journal of Selection and Assessment*, 10(1-2), 168-184.
4. Dell'Erba, G., Pancheri, P., & Intreccialagli, B. (1988). Hormonal assessment and workload correlates in air traffic controllers at the end of night shift: The stress perspective. *New Trends in Experimental & Clinical Psychiatry*.
5. Pasha, T., & Stokes, P. R. (2018). Reflecting on the Germanwings disaster: A systematic review of depression and suicide in commercial airline pilots. *Frontiers in psychiatry*, 9, 86.
6. Andrade, L., Caraveo-Anduaga, J. J., Berglund, P., Bijl, R. V., Graaf, R. D., Vollebergh, W., ... & Wittchen, H. U. (2003). The epidemiology of major depressive episodes: results from the International Consortium of Psychiatric Epidemiology (ICPE) Surveys. *International journal of methods in psychiatric research*, 12(1), 3-21.
7. Et d'Analyses, B. D. E. (2016). Final Report, Accident on 24 March 2015 at Prads-Haute-Bléone (Alpes-de-Haute-Provence, France) to the Airbus A320-211 registered D-AIPX operated by Germanwings. *Paris: Ministère de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie*.
8. Kendler, K. (2009). El «criterio clínico» y el diagnóstico de depresión mayor según el DSM-5. *REVISTA OFICIAL DE LA ASOCIACIÓN MUNDIAL DE PSIQUIATRÍA (WPA)*, 89.
9. Papakostas, G. I., Shelton, R. C., Kinrys, G., Henry, M. E., Bakow, B. R., Lipkin, S. H., ... & Bilello, J. A. (2013). Assessment of a multi-assay, serum-based biological diagnostic test for major depressive disorder: a pilot and replication study. *Molecular*

psychiatry, 18(3), 332-339.

10. De la Fuente, J. R., & Ortega, H. (1987). La prueba de supresión con dexametasona en psiquiatría. *Salud Mental*, 10(1), 23-30.
11. Watson, S., Gallagher, P., Smith, M. S., Ferrier, I. N., & Young, A. H. (2006). The dex/CRH test—is it better than the DST?. *Psychoneuroendocrinology*, 31(7), 889-894.
12. Spijker, S., Van Zanten, J. S., De Jong, S., Penninx, B. W., van Dyck, R., Zitman, F. G., ... & Hoogendijk, W. J. (2010). Stimulated gene expression profiles as a blood marker of major depressive disorder. *Biological psychiatry*, 68(2), 179-186.
13. Quinones, M. P., & Kaddurah-Daouk, R. (2009). Metabolomics tools for identifying biomarkers for neuropsychiatric diseases. *Neurobiology of disease*, 35(2), 165-176.
14. Iga, J. I., Ueno, S. I., Yamauchi, K., Motoki, I., Tayoshi, S., Ohta, K., ... & Ohmori, T. (2005). Serotonin transporter mRNA expression in peripheral leukocytes of patients with major depression before and after treatment with paroxetine. *Neuroscience letters*, 389(1), 12-16.
15. Tsao, C. W., Lin, Y. S., Chen, C. C., Bai, C. H., & Wu, S. R. (2006). Cytokines and serotonin transporter in patients with major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 30(5), 899-905.
16. Lima, L., & Urbina, M. (2002). Serotonin transporter modulation in blood lymphocytes from patients with major depression. *Cellular and molecular neurobiology*, 22(5), 797-804.
17. Niciu, M. J., Ionescu, D. F., Mathews, D. C., Richards, E. M., & Zarate, C. A. (2013). Second messenger/signal transduction pathways in major mood disorders: moving from membrane to mechanism of action, part I: major depressive disorder. *CNS spectrums*, 18(5), 231-241.
18. Hepgul, N., Cattaneo, A., Zunszain, P. A., & Pariante, C. M. (2013). Depression pathogenesis and treatment: what can we learn from blood mRNA expression?. *BMC medicine*, 11(1), 1-13.
19. Watanabe, S. Y., Iga, J. I., Ishii, K., Numata, S., Shimodera, S., Fujita, H., & Ohmori, T. (2015). Biological tests for major depressive disorder that involve leukocyte gene

expression assays. *Journal of Psychiatric Research*, 66, 1-6.

20. Albert, P. R., & Le François, B. (2010). Modifying 5-HT_{1A} receptor gene expression as a new target for antidepressant therapy. *Frontiers in neuroscience*, 4, 35.
21. Blier, P. (2014). Rational site-directed pharmacotherapy for major depressive disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 17(7), 997-1008.
22. Stringaris, A. (2017). What is depression?. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 58(12), 1287-1289.
23. American Psychiatric Association. (2014). DSM-5: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales.
24. Parker, G. (2004). Critique of the guidelines for the treatment of depression: flaws in the construction. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, 38(11-12), 885-890.
25. Brouwer, J. P., Appelhof, B. C., van Rossum, E. F., Koper, J. W., Fliers, E., Huyser, J., ... & Hoogendijk, W. J. (2006). Prediction of treatment response by HPA-axis and glucocorticoid receptor polymorphisms in major depression. *Psychoneuroendocrinology*, 31(10), 1154-1163.
26. Pavón, L., Sandoval-López, G., Hernández, M. E., Loría, F., Estrada, I., Pérez, M., ... & Heinze, G. (2006). Th2 cytokine response in major depressive disorder patients before treatment. *Journal of Neuroimmunology*, 172(1-2), 156-165.
27. De la Fuente, R., & Leefmans, F. J. Á. (2016). *Psicología médica*. Fondo de cultura económica.
28. CIE 10, O. M. S. (1992). Décima revisión de la clasificación internacional de las enfermedades: Trastornos mentales y del comportamiento. *Meditor*. Madrid.
29. Gururajan, A., Clarke, G., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2016). Molecular biomarkers of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 64, 101-133.
30. Anderson, I. M., & Haddad, P. M. (2009). CANMAT guidelines for depression: clear and user-friendly. *Journal of Affective Disorders*, 117(1).
31. Lépine, J. P., & Briley, M. (2011). The increasing burden of depression. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 7(Suppl 1), 3.

32. World Federation for Mental Health. (2012). Depresión: Una crisis global. Día Mundial de la Salud Mental 2012.
33. Medina-Mora, M. E., Borges, G., Benjet, C., Lara, C., & Berglund, P. (2007). Psychiatric disorders in Mexico: lifetime prevalence in a nationally representative sample. *The British Journal of Psychiatry*, *190*(6), 521-528.
34. Belló, M., Puentes-Rosas, E., & Medina-Mora, M. E. (2005). Prevalencia y diagnóstico de depresión en población adulta en México. *Salud pública de México*, *47*.
35. Murray, C. J., Vos, T., Lozano, R., Naghavi, M., Flaxman, A. D., Michaud, C., ... & Haring, D. (2012). Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The lancet*, *380*(9859), 2197-2223.
36. Theorell, T., Hammarström, A., Aronsson, G., Bendz, L. T., Grape, T., Hogstedt, C., ... & Hall, C. (2015). A systematic review including meta-analysis of work environment and depressive symptoms. *BMC public health*, *15*(1), 1-14.
37. Ferrari, A. J., Charlson, F. J., Norman, R. E., Patten, S. B., Freedman, G., Murray, C. J., ... & Whiteford, H. A. (2013). Burden of depressive disorders by country, sex, age, and year: findings from the global burden of disease study 2010. *PLoS medicine*, *10*(11), e1001547.
38. Weizman, S. H. I. R. A., Xénia, G., Péter, D., & Gábor, F. (2012). Pharmacogenetics of antidepressive drugs: a way towards personalized treatment of major depressive disorder [Az antidepresszívumok farmakogenetikája: a major depresszív zavar személyre szabott kezelése felé].
39. Aziz, R., & Steffens, D. C. (2013). What are the causes of late-life depression?. *Psychiatric Clinics*, *36*(4), 497-516.
40. Aziz, R., & Steffens, D. C. (2013). What are the causes of late-life depression?. *Psychiatric Clinics*, *36*(4), 497-516.
41. Andrea, H., Bültmann, U., van Amelsvoort, L. G., & Kant, Y. (2009). The incidence of anxiety and depression among employees—the role of psychosocial work characteristics. *Depression and anxiety*, *26*(11), 1040-1048.

42. Bonde, J. P. E. (2008). Psychosocial factors at work and risk of depression: a systematic review of the epidemiological evidence. *Occupational and environmental medicine*, 65(7), 438-445.
43. Siegrist, J. (2008). Chronic psychosocial stress at work and risk of depression: evidence from prospective studies. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 258(5), 115-119.
44. Picano, J. J., & Edwards, H. F. (1996). Psychiatric syndromes associated with problems in aeronautical adaptation among military student pilots. *Aviation, space, and environmental medicine*, 67(12), 1119-1123.
45. Shadrina, M., Bondarenko, E. A., & Slominsky, P. A. (2018). Genetics factors in major depression disease. *Frontiers in psychiatry*, 9, 334.
46. Zhang, C., & Rong, H. (2019). Genetic advance in depressive disorder. *Depressive Disorders: Mechanisms, Measurement and Management*, 19-57.
47. Lopizzo, N., Bocchio Chiavetto, L., Cattane, N., Plazzotta, G., Tarazi, F. I., Pariante, C. M., ... & Cattaneo, A. (2015). Gene–environment interaction in major depression: focus on experience-dependent biological systems. *Frontiers in psychiatry*, 6, 68.
48. Sullivan, P. F., Neale, M. C., & Kendler, K. S. (2000). Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *American journal of psychiatry*, 157(10), 1552-1562.
49. Kendler, K. S., Gatz, M., Gardner, C. O., & Pedersen, N. L. (2006). A Swedish national twin study of lifetime major depression. *American Journal of Psychiatry*, 163(1), 109-114.
50. Flint, J., & Kendler, K. S. (2014). The genetics of major depression. *Neuron*, 81(3), 484-503.
51. Leonard, B. E. (2006). HPA and immune axes in stress: involvement of the serotonergic system. *Neuroimmunomodulation*, 13(5-6), 268-276.
52. Del Rey, A., & Besedovsky, H. O. (2017). Immune-neuro-endocrine reflexes, circuits, and networks: physiologic and evolutionary implications. *Endocrine immunology*, 48, 1-18.

53. Dean, J., & Keshavan, M. (2017). The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian journal of psychiatry*, 27, 101-111.
54. Haroon, E., Raison, C. L., & Miller, A. H. (2012). Psychoneuroimmunology meets neuropsychopharmacology: translational implications of the impact of inflammation on behavior. *Neuropsychopharmacology*, 37(1), 137-162.
55. Blalock, J. E., & Smith, E. M. (2007). Conceptual development of the immune system as a sixth sense. *Brain, Behavior, and Immunity*, 21(1), 23-33.
56. Pavón Romero, L., Jiménez Martínez, M. C., & Garcés Álvarez, M. E. (2016). Inmunología molecular, celular y traslacional. *Editorial Wolters Kluwer. Edición Ira*.
57. Morales Montor, J., Ponce Regalado, M. D., & Becerril Villanueva, L. E. (2018). Nuevos enfoques en el estudio de las Interacciones Neuroinmunoendocrinológicas.
58. Besedovsky, H. O., & Del Rey, A. (2011). Central and peripheral cytokines mediate immune-brain connectivity. *Neurochemical Research*, 36(1), 1-6.
59. Pavlov, V. A., & Tracey, K. J. (2012). The vagus nerve and the inflammatory reflex—linking immunity and metabolism. *Nature Reviews Endocrinology*, 8(12), 743-754.
60. Del Rey, A., Balschun, D., Wetzel, W., Randolph, A., & Besedovsky, H. O. (2013). A cytokine network involving brain-borne IL-1 β , IL-1ra, IL-18, IL-6, and TNF α operates during long-term potentiation and learning. *Brain, behavior, and immunity*, 33, 15-23.
61. Mahar, I., Bambico, F. R., Mechawar, N., & Nobrega, J. N. (2014). Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 38, 173-192.
62. Herman, J. P., & Tasker, J. G. (2016). Paraventricular hypothalamic mechanisms of chronic stress adaptation. *Frontiers in endocrinology*, 7, 137.
63. Maes, M., Berk, M., Goehler, L., Song, C., Anderson, G., Galecki, P., & Leonard, B. (2012). Depression and sickness behavior are Janus-faced responses to shared inflammatory pathways. *BMC medicine*, 10(1), 1-19.
64. Dantzer, R., O'connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature reviews neuroscience*, 9(1), 46-56.

65. DellaGioia, N., & Hannestad, J. (2010). A critical review of human endotoxin administration as an experimental paradigm of depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 34(1), 130-143.
66. Dunn, A. J., Swiergiel, A. H., & de Beaurepaire, R. (2005). Cytokines as mediators of depression: what can we learn from animal studies?. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(4-5), 891-909.
67. Stepanichev, M., Dygalo, N. N., Grigoryan, G., Shishkina, G. T., & Gulyaeva, N. (2014). Rodent models of depression: neurotrophic and neuroinflammatory biomarkers. *BioMed research international*, 2014.
68. Smith, R. S. (1991). The macrophage theory of depression. *Medical hypotheses*, 35(4), 298-306.
69. Leonard, B., & Maes, M. (2012). Mechanistic explanations how cell-mediated immune activation, inflammation and oxidative and nitrosative stress pathways and their sequels and concomitants play a role in the pathophysiology of unipolar depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(2), 764-785.
70. Liu, H., Luiten, P. G., Eisel, U. L., Dejongste, M. J., & Schoemaker, R. G. (2013). Depression after myocardial infarction: TNF- α -induced alterations of the blood-brain barrier and its putative therapeutic implications. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(4), 561-572.
71. Rothermundt, M., Arolt, V., Fenker, J., Gutbrodt, H., Peters, M., & Kirchner, H. (2001). Different immune patterns in melancholic and non-melancholic major depression. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*, 251(2), 90-97.
72. Saltiel, P. F., & Silvershein, D. I. (2015). Major depressive disorder: mechanism-based prescribing for personalized medicine. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 11, 875.
73. Noto, C., Rizzo, L. B., Mansur, R. B., McIntyre, R. S., Maes, M., & Brietzke, E. (2014). Targeting the inflammatory pathway as a therapeutic tool for major depression. *Neuroimmunomodulation*, 21(2-3), 131-139.
74. Dulka, B. N., Bourdon, A. K., Clinard, C. T., Muvvala, M. B., Campagna, S. R., &

- Cooper, M. A. (2017). Metabolomics reveals distinct neurochemical profiles associated with stress resilience. *Neurobiology of stress*, 7, 103-112.
75. McEwen, B. S. (2008). Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *European journal of pharmacology*, 583(2-3), 174-185.
76. Jeckel, C. M. M., Lopes, R. P., Berleze, M. C., Luz, C., Feix, L., de Lima Argimon, I. I., ... & Bauer, M. E. (2010). Neuroendocrine and immunological correlates of chronic stress in 'strictly healthy' populations. *Neuroimmunomodulation*, 17(1), 9-18.
77. Toben, C., & Baune, B. T. (2015). An act of balance between adaptive and maladaptive immunity in depression: a role for T lymphocytes. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 10(4), 595-609.
78. Jaremka, L. M., Lindgren, M. E., & Kiecolt-Glaser, J. K. (2013). Synergistic relationships among stress, depression, and troubled relationships: insights from psychoneuroimmunology. *Depression and anxiety*, 30(4), 288-296.
79. Brydon, L., Edwards, S., Jia, H., Mohamed-Ali, V., Zachary, I., Martin, J. F., & Steptoe, A. (2005). Psychological stress activates interleukin-1 β gene expression in human mononuclear cells. *Brain, behavior, and immunity*, 19(6), 540-546.
80. Kiecolt-Glaser, J. K., Gouin, J. P., & Hantsoo, L. (2010). Close relationships, inflammation, and health. *Neuroscience & biobehavioral reviews*, 35(1), 33-38.
81. Vuorio, A., Laukkala, T., & Navathe, P. (2012). Major depression and fitness to fly by different aviation authorities. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*, 83(9), 909-911.
82. Akin, A., & Chaturvedi, A. K. (2003). Selective serotonin reuptake inhibitors in pilot fatalities of civil aviation accidents, 1990-2001. *Aviation, space, and environmental medicine*, 74(11), 1169-1176.
83. Sen, A., Akin, A., Canfield, D. V., & Chaturvedi, A. K. (2007). Medical histories of 61 aviation accident pilots with postmortem SSRI antidepressant residues. *Aviation, space, and environmental medicine*, 78(11), 1055-1059.
84. Organización de Aviación Civil Internacional. (2015). Informe de seguridad operacional [Internet]. Disponible en: <http://www.icao.int/>

85. Aviation Safety Network. (2016). 1996-2017 Aviation Safety Database [Internet]. Disponible en: <https://aviation-safety.net>
86. EASA. (2015). Task Force on Measures Following the Accident of Germanwings Flight 9525 Final Report [Internet]. Disponible en: <https://ec.europa.eu/transport/sites/transport/files/modes/air/news/doc/2015-07-17-germanwings-report/germanwings-task-force-final-report.pdf>
87. Dirección General de Protección y Medicina Preventiva en el Transporte DGPMPT. (2019). Medicina Preventiva sitio web [Internet]. Disponible en: <https://ts.sct.gob.mx/transporte-y-medicina-preventiva/medicina-preventiva/>
88. SECRETARÍA DE COMUNICACIONES Y TRANSPORTES. (2013). Reglamento del Servicio de Medicina Preventiva en el Transporte [Internet]. Diario Oficial de la Federación, DOF10-05-2013. Disponible en: http://www.sct.gob.mx/fileadmin/DireccionesGrales/DGPMPT/Documentos/normatividad/Reglamento_DGPMPT_10-05-2013.pdf
89. Arango, S. S. (2012). Biomarkers for the evaluation of human health risks. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 30(1), 75-82.
90. Strimbu, K., & Tavel, J. A. (2010). What are biomarkers?. *Current Opinion in HIV and AIDS*, 5(6), 463.
91. World Health Organization. (1993). Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles-Environmental Health Criteria 155.
92. World Health Organization. (2001). *Biomarkers in Risk Assessment: Validity and Vlidation-Environmental Health Criteria 222*.
93. FDA-NIH Biomarker Working Group. (2016). BEST (Biomarkers, endpoints, and other tools) resource [Internet]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27010052/>
94. Thase, M. E. (2014). Using biomarkers to predict treatment response in major depressive disorder: evidence from past and present studies. *Dialogues in clinical neuroscience*, 16(4), 539.
95. Hacimusalar, Y., & Eşel, E. (2018). Suggested biomarkers for major depressive disorder. *Archives of Neuropsychiatry*, 55(3), 280.

96. Fabbri, C., Hosak, L., Mössner, R., Giegling, I., Mandelli, L., Bellivier, F., ... & Serretti, A. (2017). Consensus paper of the WFSBP Task Force on Genetics: Genetics, epigenetics and gene expression markers of major depressive disorder and antidepressant response. *The world journal of biological psychiatry*, 18(1), 5-28.
97. Cattaneo, A., Gennarelli, M., Uher, R., Breen, G., Farmer, A., Aitchison, K. J., ... & Pariante, C. M. (2013). Corrigendum: Candidate Genes Expression Profile Associated with Antidepressants Response in the GENDEP Study: Differentiating between Baseline 'Predictors' and Longitudinal 'Targets'. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38(2), 376-376.
98. Peng, Q., Yan, H., Wen, Y., Lai, C., & Shi, L. (2018). Association between NR3C1 rs41423247 polymorphism and depression: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine*, 97(39).
99. Ising, M., Maccarrone, G., Brückl, T., Scheuer, S., Hennings, J., Holsboer, F., ... & Lucae, S. (2019). FKBP5 gene expression predicts antidepressant treatment outcome in depression. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 485.
100. Pandey, G. N., Rizavi, H. S., Zhang, H., Bhaumik, R., & Ren, X. (2018). Abnormal protein and mRNA expression of inflammatory cytokines in the prefrontal cortex of depressed individuals who died by suicide. *Journal of psychiatry and neuroscience*, 43(6), 376-385.
101. Gadow, K. D., Smith, R. M., & Pinsonneault, J. K. (2014). Serotonin 2A receptor gene (HTR2A) regulatory variants: possible association with severity of depression symptoms in children with autism spectrum disorder. *Cognitive and Behavioral Neurology*, 27(2), 107-116.
102. Pang, T. Y., Du, X., Zajac, M. S., Howard, M. L., & Hannan, A. J. (2009). Altered serotonin receptor expression is associated with depression-related behavior in the R6/1 transgenic mouse model of Huntington's disease. *Human molecular genetics*, 18(4), 753-766.
103. Zhang, L., Su, T. P., Choi, K., Maree, W., Li, C. T., Chung, M. Y., ... & Ursano, R. (2011). P11 (S100A10) as a potential biomarker of psychiatric patients at risk of suicide. *Journal of psychiatric research*, 45(4), 435-441.

104. NCBI Resource Coordinators. (2016). Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic acids research*, 44(D1), D7-D19.
105. Stelzer, G., Rosen, N., Plaschkes, I., Zimmerman, S., Twik, M., Fishilevich, S., ... & Lancet, D. (2016). The GeneCards suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses. *Current protocols in bioinformatics*, 54(1), 1-30.
106. UniProt Consortium. (2019). UniProt: a worldwide hub of protein knowledge. *Nucleic acids research*, 47(D1), D506-D515.
107. Dalton, E. D., Hammen, C. L., Najman, J. M., & Brennan, P. A. (2014). Genetic susceptibility to family environment: BDNF Val66met and 5-HTTLPR influence depressive symptoms. *Journal of Family Psychology*, 28(6), 947.
108. Sharpley, C. F., Palanisamy, S. K., Glyde, N. S., Dillingham, P. W., & Agnew, L. L. (2014). An update on the interaction between the serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress and depression, plus an exploration of non-confirming findings. *Behavioural brain research*, 273, 89-105.
109. Rivera-Baltanas, T., Olivares, J. M., Calado-Otero, M., Kalynchuk, L. E., Martinez-Villamarin, J. R., & Caruncho, H. J. (2012). Serotonin transporter clustering in blood lymphocytes as a putative biomarker of therapeutic efficacy in major depressive disorder. *Journal of affective disorders*, 137(1-3), 46-55.
110. Kishi, T., Tsunoka, T., Ikeda, M., Kawashima, K., Okochi, T., Kitajima, T., ... & Iwata, N. (2009). Serotonin 1A receptor gene and major depressive disorder: an association study and meta-analysis. *Journal of human genetics*, 54(11), 629-633.
111. R Albert, P., & M Fiori, L. (2014). Transcriptional dys-regulation in anxiety and major depression: 5-HT1A gene promoter architecture as a therapeutic opportunity. *Current pharmaceutical design*, 20(23), 3738-3750.
112. Villafuerte, S. M., Vallabhaneni, K., Śliwerska, E., McMahon, F. J., Young, E. A., & Burmeister, M. (2009). SSRI response in depression may be influenced by SNPs in HTR1B and HTR1A. *Psychiatric genetics*, 19(6), 281.
113. Svenningsson, P., Kim, Y., Warner-Schmidt, J., Oh, Y. S., & Greengard, P. (2013). p11 and its role in depression and therapeutic responses to antidepressants. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(10), 673-680.

114. Belzeaux, R., Azorin, J. M., & Ibrahim, E. C. (2014). Monitoring candidate gene expression variations before, during and after a first major depressive episode in a 51-year-old man. *BMC psychiatry*, *14*(1), 1-5.
115. Milosevic, A., Liebmann, T., Knudsen, M., Schintu, N., Svenningsson, P., & Greengard, P. (2017). Cell-and region-specific expression of depression-related protein p11 (S100a10) in the brain. *Journal of Comparative Neurology*, *525*(4), 955-975.
116. Sargin, D., Chottekalapanda, R. U., Perit, K. E., Yao, V., Chu, D., Sparks, D. W., ... & Lambe, E. K. (2020). Mapping the physiological and molecular markers of stress and SSRI antidepressant treatment in S100a10 corticostriatal neurons. *Molecular psychiatry*, *25*(5), 1112-1129.
117. Tzang, R. F., Hong, C. J., Liou, Y. J., Yu, Y. W. Y., Chen, T. J., & Tsai, S. J. (2008). Association study of p11 gene with major depressive disorder, suicidal behaviors and treatment response. *Neuroscience letters*, *447*(1), 92-95.
118. Arreola, R., Becerril-Villanueva, E., Cruz-Fuentes, C., Velasco-Velázquez, M. A., Garcés-Alvarez, M. E., Hurtado-Alvarado, G., ... & Pavón, L. (2015). Immunomodulatory effects mediated by serotonin. *Journal of immunology research*, *2015*.
119. Chen, Y., Leon-Ponte, M., Pingle, S. C., O'Connell, P. J., & Ahern, G. P. (2015). T lymphocytes possess the machinery for 5-HT synthesis, storage, degradation and release. *Acta Physiologica*, *213*(4), 860-867.
120. Baganz, N. L., & Blakely, R. D. (2013). A dialogue between the immune system and brain, spoken in the language of serotonin. *ACS chemical neuroscience*, *4*(1), 48-63.
121. Marazziti, D., Landi, P., Baroni, S., Vanelli, F., Bartolommei, N., Picchetti, M., & Dell'Osso, L. (2013). The role of platelet/lymphocyte serotonin transporter in depression and beyond. *Current drug targets*, *14*(5), 522-530.
122. Miller, A. H. (2010). Depression and immunity: a role for T cells?. *Brain, behavior, and immunity*, *24*(1), 1-8.
123. Pavón-Romero L et al. Asociación de la expresión génica de SLC6A4, HTR1A, S100A10, IFNG e IL2 en PBMC en la eficacia del tratamiento con ISRS en pacientes

con depresión mayor. Manuscrito no publicado.

124. Vázquez, C., & Sanz, J. (1991). Trastornos depresivos (I): Datos clínicos y modelos teóricos. *Manual de Psicopatología*, 2(1), 785-875.
125. García, J. B., Portilla, M. P. G., Fernández, M. T. B., Martínez, P. A. S., & García, M. B. (2002). *Banco de instrumentos básicos para la práctica de la psiquiatría clínica*. Madrid: Ars Médica..
126. Jackson-Koku, G. (2016). Beck depression inventory. *Occupational Medicine*, 66(2), 174-175.
127. Guo, Y., Musselman, D. L., Manatunga, A. K., Gilles, N., Lawson, K. C., Porter, M. R., ... & Nemeroff, C. B. (2006). The diagnosis of major depression in patients with cancer: a comparative approach. *Psychosomatics*, 47(5), 376-384.
128. Kizhakeyil, A., Ong, S. T., Fazil, M. H. U. T., Chalasani, M. L. S., Prasannan, P., & Verma, N. K. (2019). Isolation of human peripheral blood T-lymphocytes. In *T-Cell Motility* (pp. 11-17). Humana Press, New York, NY.
129. Cimadevila Álvarez, C. (2008). Estudio de la relación entre deterioro cognitivo y sintomatología depresiva en la población gallega mayor de 65 años: tesis doctoral.
130. González, M. P. G. P., Fernández, M. T. B., Martínez, P. A. S., Redondo, M. P., & García, M. B. (2015). *Banco de instrumentos básicos para la práctica de la psiquiatría clínica*. Comunicación y Ediciones Sanitarias.
131. Sharp, R. (2015). The Hamilton rating scale for depression. *Occupational Medicine*, 65(4), 340-340.
132. Bobes, J., Bulbena, A., Luque, A., Dal-Ré, R., Ballesteros, J., Ibarra, N., & Grupo de Validación en Español de Escalas Psicométricas (GVEEP. (2003). Evaluación psicométrica comparativa de las versiones en español de 6, 17 y 21 ítems de la Escala de valoración de Hamilton para la evaluación de la depresión. *Medicina clinica*, 120(18), 693-700.
133. Hamilton, M. A. X. (1959). The assessment of anxiety states by rating. *British journal of medical psychology*.
134. Maier, W., Buller, R., Philipp, M., & Heuser, I. (1988). The Hamilton Anxiety Scale:

- reliability, validity and sensitivity to change in anxiety and depressive disorders. *Journal of affective disorders*, 14(1), 61-68.
135. Liu, J., Dong, Q., Lu, X., Sun, J., Zhang, L., Wang, M., ... & Li, L. (2020). Influence of comorbid anxiety symptoms on cognitive deficits in patients with major depressive disorder. *Journal of affective disorders*, 260, 91-96.
136. Bathla, M., Singh, M., & Relan, P. (2016). Prevalence of anxiety and depressive symptoms among patients with hypothyroidism. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 20(4), 468.
137. Steer, R. A., & D^o, E. D. (1987). Taking the measure of anxiety and depression. Validity of the reconstructed Hamilton scales. *J Nerv Ment Dis*, 175(8), 474-9.
138. Aguilera, P., Tachiquín, M. R., Graciela, M., Munive, R., & Olvera, B. P. (2014). PCR en tiempo real. *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*. México DF: SEMARNAT, INECC, UAM-I, 175-201.
139. Becerril-Villanueva, E., Moreno-Aguilar, J., Mendieta-Cabrera, D., González-Cruz, D., Natera-Rey, G., Pavón-Romero, L., & Hernández-Gutiérrez, M. E. (2011). Estudio preliminar de la expresión del mensaje genético del transportador de serotonina en células mononucleares de sangre periférica en pacientes con dependencia al alcohol con y sin depresión mayor comórbida. *Salud mental*, 34(2), 139-147.
140. Wong, M. L., & Medrano, J. F. (2005). Real-time PCR for mRNA quantitation. *Biotechniques*, 39(1), 75-85.
141. Schmittgen, T. D., & Livak, K. J. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nature protocols*, 3(6), 1101-1108.
142. Li, Y., Xiao, B., Qiu, W., Yang, L., Hu, B., Tian, X., & Yang, H. (2010). Altered expression of CD4+ CD25+ regulatory T cells and its 5-HT1a receptor in patients with major depression disorder. *Journal of affective disorders*, 124(1-2), 68-75.
143. Blaveri, E., Kelly, F., Mallei, A., Harris, K., Taylor, A., Reid, J., ... & Bates, S. (2010). Expression profiling of a genetic animal model of depression reveals novel molecular pathways underlying depressive-like behaviours. *PloS one*, 5(9), e12596.
144. Aune, T. M., McGrath, K. M., Sarr, T., Bombara, M. P., & Kelley, K. A. (1993). Expression of 5HT1a receptors on activated human T cells. Regulation of cyclic AMP

- levels and T cell proliferation by 5-hydroxytryptamine. *The Journal of Immunology*, 151(3), 1175-1183.
145. Aune, T. M., Golden, H. W., & McGrath, K. M. (1994). Inhibitors of serotonin synthesis and antagonists of serotonin 1A receptors inhibit T lymphocyte function in vitro and cell-mediated immunity in vivo. *The Journal of Immunology*, 153(2), 489-498.
146. Navarro, E., Serrano-Heras, G., Castaño, M. J., & Solera, J. J. C. C. A. (2015). Real-time PCR detection chemistry. *Clinica chimica acta*, 439, 231-250.
147. Belzeaux, R., Formisano-Tréziny, C., Loundou, A., Boyer, L., Gabert, J., Samuelian, J. C., ... & Naudin, J. (2010). Clinical variations modulate patterns of gene expression and define blood biomarkers in major depression. *Journal of psychiatric research*, 44(16), 1205-1213.
148. Su, T. P., Zhang, L., Chung, M. Y., Chen, Y. S., Bi, Y. M., Chou, Y. H., ... & Ursano, R. (2009). Levels of the potential biomarker p11 in peripheral blood cells distinguish patients with PTSD from those with other major psychiatric disorders. *Journal of psychiatric research*, 43(13), 1078-1085.
149. Svenningsson, P., Chergui, K., Rachleff, I., Flajolet, M., Zhang, X., Yacoubi, M. E., ... & Greengard, P. (2006). Alterations in 5-HT_{1B} receptor function by p11 in depression-like states. *Science*, 311(5757), 77-80.
150. Reyna, C., Mola, D. J., & Correa, P. S. (2019). Escala de Estrés Percibido: Análisis Psicométrico desde la TCT y la TRI. *Ansiedad y Estrés*, 25(2), 138-147.
151. IMSS Instituto Mexicano del Seguro Social. TEST DE ESTRÉS LABORAL [Internet]. México. Disponible en: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/salud/estreslaboral/Test-Estres-Laboral.pdf>
152. Cattaneo, A., Gennarelli, M., Uher, R., Breen, G., Farmer, A., Aitchison, K. J., ... & Pariante, C. M. (2013). Candidate genes expression profile associated with antidepressants response in the GENDEP study: differentiating between baseline 'predictors' and longitudinal 'targets'. *Neuropsychopharmacology*, 38(3), 377-385.
153. Mehta, D., Menke, A., & Binder, E. B. (2010). Gene expression studies in major depression. *Current psychiatry reports*, 12(2), 135-144.
154. Hernández Guzmán, A. K., & Guzmán-Barney, M. M. (2013). Comparación de

métodos de extracción de RNA para la detección por RT-PCR del Potato yellow vein virus (PYVV) en diferentes órganos de *Solanum tuberosum* grupo phureja. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 71-81.

155. Becerril-Villanueva, E., Olvera-Alvarez, M. I., Alvarez-Herrera, S., Maldonado-García, J. L., López-Torres, A., Ramírez-Marroquín, O. A., ... & Pavón, L. Screening of SERT and p11 mRNA levels in airline pilots: a translational approach. *Frontiers in Psychiatry*, 452.
156. Tecalco-Cruz, A. C., Macías-Silva, M., Ramírez-Jarquín, J. O., Ríos-López, D. G., & Zepeda-Cervantes, J. (2021). Mecanismos básicos en la modulación de la expresión génica: algunas implicaciones en el envejecimiento del cerebro. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 24.
157. Berenzon Gorn, S., Tiburcio Sainz, M., & Medina-Mora Icaza, M. (2005). Variables demográficas asociadas con la depresión: diferencias entre hombres y mujeres que habitan en zonas urbanas de bajos ingresos. *Salud Mental*, 28(6), 33-40.
158. Simó-Noguera, C., Hernández-Monleón, A., Muñoz-Rodríguez, D., & González-Sanjuan, M. (2015). El efecto del estado civil y de la convivencia en pareja en la salud. *Revista Española de Investigaciones Sociológicas (REIS)*, 151(1), 141-165.

VITA

MARÍA IRMA OLVERA ALVAREZ

DATOS GENERALES	<p>Fecha de nacimiento: 24/06/1985</p> <p>Lugar de nacimiento: Ciudad de México</p> <p>Título Licenciatura: MEDICA CIRUJANA</p> <p>Cédula profesional: 6382929</p> <p>Título Especialidad: MÉDICO GENETISTA</p> <p>Cédula profesional: 09124191</p> <p>Contacto: mi_olvera@hotmail.com</p>
FORMACIÓN	<p>Bachillerato Escuela Nacional Preparatoria # 6 Antonio Caso UNAM participando en el “Programa Tutorial de Alto Rendimiento Académico”.</p> <p>Licenciatura Carrera de Médico Cirujano en la Facultad de Medicina campus Ciudad Universitaria UNAM, perteneciendo a los grupos NUCE (Núcleos de Calidad Educativa)”. </p> <p>Internado de pregrado Hospital General de Zona/Médico Familiar No. 26. IMSS. México, D.F.</p> <p>Servicio social CEAPS Tonicato Mariano Matamoros. Jurisdicción: Tenancingo. Municipio: Tonicato. ISEM. Estado de México.</p> <p>Especialidad en Genética Médica UNAM. Sede: Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Secretaría de Salud. México, CdMx</p> <p>Actualmente cursando: Maestría en Dirección y Administración en Salud. Universidad Internacional de la Rioja en México.</p>
EXPERIENCIA LABORAL	<p>INCMNSZ Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán 01-03-11 al 29-02-14 - Médico Residente de Genética Médica. Miembro Activo de la Asociación de Médicos del INCMNSZ desde febrero de 2014.</p> <p>Especialistas A la Vanguardia, S.A. de C.V. Agosto 2014 - abril 2015 - Atención Médica en el World Trade Center</p> <p>Dirección General de Protección y Medicina Preventiva en el Transporte Abril 2015 a la fecha - Jefe de Unidad de Atención Médica “A”</p> <p>Consultorio médico particular – Roma Sur 2015 a la fecha - Médico Genetista</p>

CURSOS Y
CONGRESOS

- Presentación de “Reporte de un caso de síndrome VCF con t(14;22) no balanceada heredada y aneuploidia de cromosomas sexuales”. XXXVII Congreso Nacional de Genética Humana. Noviembre 2012.
- Presentación de trabajo “Deleción terminal del brazo largo del cromosoma 7. Reporte de un caso y revisión de la literatura”. XXXVIII Congreso Nacional de Genética Humana y III Congreso Latinoamericano de Genética Humana. Noviembre 2013.
- Asistencia a 1er Curso Teórico de “Genómica estructural y funcional en las enfermedades multifactoriales”. Hospital Juárez de México. 10-12 septiembre 2014.
- Asistencia a “Curso Iberoamericano de Genética Forense. Interpretación de las Pruebas de ADN en la Identificación Humana”. Centro de Investigación y Desarrollo de Ciencias de la Salud de la UANL. 24-28 noviembre 2014.
- Asistencia a 3er curso de aplicaciones de la Biología Molecular en el Laboratorio Clínico. Centro Médico Nacional “20 de noviembre”. 12-26 mayo 2015.
- Asistencia a XLVII Curso Teórico-Práctico de Genética Humana. Facultad de Química UNAM. 29 de junio a 03 de julio 2015.
- Asistencia al Curso Técnico Práctico: Análisis estadístico de marcadores del cromosoma X e InDels y su aplicación en Genética Forense. Escuela de Ciencias Forenses de la UNAM. 10 a 12 de agosto 2015.
- Asistencia a curso “Genética de Poblaciones Humanas”. Instituto Nacional de Pediatría. 21 de septiembre a 30 de noviembre 2015.
- Asistencia a curso Teórico-Práctico “Análisis de expresión génica por PCR tiempo real”. Bio-Rad. CdMx. 13 y 14 de septiembre 2016.
- Presentación de trabajo “Determinación de la expresión génica de SLC6A4, HTR1A, S100A10, IFNG e IL2 en pacientes con depresión a lo largo de 52 semanas de tratamiento”. XLI Congreso Nacional de Genética Humana. 11 de noviembre, 2016.
- Presentación de trabajo “Validación de una prueba molecular para la determinación del trastorno depresivo mayor en navegantes aéreos, marítimos y terrestres a través de la detección de alteraciones en la expresión génica de los componentes del sistema serotoninérgico en PBMC”. III Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Neuroinmunoendocrinología. 16 a 20 de octubre 2017.
- Ponente del tema “Genética Forense. ¿Qué es la huella génica?”. II Jornadas de Actualización en Temas Selectos para el QFB. Hospital General de Puebla. 16 de noviembre 2018.
- Ponente del tema “Lo que debes saber sobre síndrome de Down”. 2da Jornada Académica del Día Mundial del Síndrome de Down. Hospital Pediátrico Peralvillo. 21 de marzo 2019.
- Ponente del tema “ADN, una cuestión de seguridad en el Transporte”. VIII Curso de Genética y Toxicología Forense. CMN SXXI IMSS. 13 de junio 2019.
- Socia Numeraria de la Asociación Mexicana de Genética Humana desde 2020
- Socia Numeraria del Sistema de Educación Continua para el Médico General y Familiar desde 2020.
- Asistencia a “Primer Simposio de Educación Médica Continua AMGH: Mucopolisacaridosis”, 23 de mayo del 2020.

-
- Asistencia al “Primer Curso Virtual de Actualización en Genética Humana AMGH”, del 8 de junio al 2020 al 12 de junio del 2020.
 - Asistencia al “Curso Básico para el Médico Evaluador Dictaminador (DGPymPT)”. Centro Internacional de Adiestramiento en Aviación Civil. 12 a 26 abril 2021.
 - Asistencia a “Diplomado en Administración e Investigación en Salud”. Universidad Internacional de la Rioja en México. 3 de mayo a 18 de julio de 2021.
 - Asistencia a “Calidad y Técnicas en Auditoría”. Centro Internacional de Adiestramiento en Aviación Civil. Agosto 2021.
 - Asistencia a curso “Familiarización con el Manual del Inspector Verificador Aeronáutico Médico Evaluador”. Centro Internacional de Adiestramiento en Aviación Civil. Octubre 2021.
 - Asistencia a “Diplomado en Medicina Aeroespacial”. Centro Internacional de Adiestramiento en Aviación Civil. 2021

PUBLICACIONES

- Alvarez-Herrera S, Becerril-Villanueva, Pérez-Sánchez G, Olvera-Alvarez I, Pavón L. Interacciones neuroendocrinoinmunológicas en la salud y enfermedad. En Tópicos en Ciencias Biológicas 2. Universidad del Mayab, S.C. Merida Yucatan, Mexico 2017. ISBN en trámite.
- Olvera-Alvarez I, Becerril-Villanueva E, Hernández-Ferreira E, Pérez-Sánchez G, Valencia-Baños A, Torres-Serrano A, Sánchez-García H, Cepeda-González R, Chaparro-González Y, Aguilar-Zinser V, Pavón L. “Expresión génica de SLC6A4, HTR1A y S100A10 en linfocitos de sangre periférica: un potencial biomarcador de depresión y nueva herramienta para incrementar la seguridad aérea”. En Nuevos enfoques en el estudio de las Interacciones Neuroinmunoendrinológicas. Universidad de Guadalajara. México 2018. ISBN en trámite.
- Becerril-Villanueva, E., Olvera-Alvarez, M. I., Alvarez-Herrera, S., Maldonado-García, J. L., López-Torres, A., Ramírez-Marroquín, O. A., ... & Pavón, L. Screening of SERT and p11 mRNA levels in airline pilots: a translational approach. *Frontiers in Psychiatry*, 452.



Screening of SERT and p11 mRNA Levels in Airline Pilots: A Translational Approach

OPEN ACCESS

Edited by:

Michael Kluge,
University Hospital Leipzig, Germany

Reviewed by:

Anoop Kumar,
Delhi Pharmaceutical Sciences and
Research University, India
Thomas Stainkhalner,
Medical University of Vienna, Austria

*Correspondence:

Gilberto Pérez-Sánchez
gilberto.perez.sanchez@imp.edu.mx
Lenin Pavón
kunil@imp.edu.mx

[†] These authors have contributed
equally to this work and share first
authorship

Specialty section:

This article was submitted to
Molecular Psychiatry,
a section of the journal
Frontiers in Psychiatry

Received: 21 January 2022

Accepted: 23 February 2022

Published: 23 March 2022

Citation:

Becerril-Villanueva E,
Olvera-Alvarez M, Alvarez-Hernandez S,
Maldonado-García JL,
López-Torres A,
Ramírez-Marroquín OA,
González-Ruiz O,
Nogueira-Fernández JM,
Mendoza-Contreras JM,
Sánchez-García HD, José-Alfallo JA,
Valencia Baños A, Torres-Serrano AB,
Jiménez-Genchi J,
Mendieta-Cabrera D,
Pérez-Sánchez G and Pavón L (2022)
Screening of SERT and p11 mRNA
Levels in Airline Pilots: A Translational
Approach.
Front. Psychiatry 13:859768.
doi: 10.3389/fpsy.2022.859768

Enrique Becerril-Villanueva^{1†}, María Irma Olvera-Alvarez^{1,2†}, Samantha Alvarez-Herrera¹,
Jose Luis Maldonado-García¹, Adolfo López-Torres³,
Oscar Abelardo Ramírez-Marroquín³, Octavio González-Ruiz²,
José Manuel Nogueira-Fernández², José Manuel Mendoza-Contreras²,
Héctor Omar Sánchez-García², José Antonio José-Alfallo², Atenodoro Valencia Baños²,
Ana Berta Torres-Serrano², Janeth Jiménez-Genchi⁴, Danelia Mendieta-Cabrera⁵,
Gilberto Pérez-Sánchez^{1*} and Lenin Pavón^{1*}

¹ Laboratorio de Psicoimmunología, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, Ciudad de México, México,

² Dirección General de Protección y Medicina Preventiva en el Transporte, Secretaría de Comunicaciones y Transportes,

Ciudad de México, México, ³ Centro de Investigaciones Científicas, Instituto de Química Aplicada, Universidad del

Papaloapan, Oaxaca, México, ⁴ Hospital Psiquiátrico Fray Bernardino Álvarez, Ciudad de México, México, ⁵ Servicios

Clinicos, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, Ciudad de México, México

Airline pilots are frequently exposed to numerous flights per week, changes in their circadian rhythms, and extended periods away from home. All these stressors make pilots susceptible to developing psychiatric disorders. Recently, emphasis has been placed on the need for molecular tests that help in the diagnosis of depression. The genes *SLC6A4* and *S100A10* encode serotonin transporter (SERT) and p11 protein, respectively. Their expression has been frequently associated with stress and depression. In this work, we quantified, by quantitative PCR, the expression of SERT and p11 in peripheral mononuclear cells of airline pilots compared to patients with depression and healthy volunteers. Moreover, by mass spectrometry, we quantified the serum serotonin levels in the same three groups. We found that SERT and p11 were overexpressed in the mononuclear cells of airline pilots and depressed patients compared to healthy volunteers. Although serum serotonin was not different between healthy volunteers and airline pilots, a decreasing trend was observed in the latter. As expected, serum serotonin in the patients was significantly lower. Alterations in SERT and p11 in airline pilots could be related to professional stress, a condition that could potentially affect their long-term mental health.

Keywords: stress, depression, airline pilots, serotonin transporter, p11

INTRODUCTION

Depression is a mood disorder characterized by the presence of symptoms such as deep sadness, loss of interest, difficulty experiencing pleasure, and feelings of guilt or low self-esteem. Other sleep and appetite disorders as well as feelings of fatigue and changes in body weight may also occur. Depression has a high prevalence, is the leading cause of disability, and contributes significantly to the global burden of disease. Additionally, it affects people of all ages (1–3) and the most serious cases can result in suicide. The etiology of depression is complex, involving

several genetic, biological, and psychosocial factors. Among the biological factors are monoamine deficiency, neurotrophic disturbances, dysfunctional HPA activity, and inflammatory alterations. Since the etiology of depression is multifactorial, much remains to be studied about the molecular mechanisms underlying the pathophysiology of this disorder (4, 5).

In recent years, airplane accidents have raised concerns about aviation security and the mental health of airline pilots. In 2015, Flight 9,525 crashed in a mountainous region of France through a suicidal act of the pilot, who was suffering from depression (6). As a consequence, the European Aviation Safety Agency (EASA) recommended increasing aviation safety and improving the diagnostic methods for psychiatric disorders (7). Airline pilots live with high levels of stress due to their occupation (8); however, other factors, such as their social life and family problems, also contribute to their stressful life (9, 10). Several authors have stated that all of these factors make pilots susceptible to developing psychiatric disorders such as depression (10). The prevalence of depression in airline pilots is 1.9–12.6% (11) compared to 7.2–12.9% reported in the general population (12). The discrepancy in the prevalence of depression between airline pilots and the general population suggests that this disorder could be underdiagnosed in pilots. Currently, the diagnosis of depression is performed by a psychiatrist, according to the Diagnostic and Statistical Manual 5th edition (DSM-5), using structured interviews and rating scales, such as Mini-Mental State Examination (MMSE), Beck depression inventory (BDI), and Hamilton Depression Rating Scale (HDRS). In the past 50 years, several research projects have focused their efforts on searching for potential biomarkers of depression (13), such as serum biomarkers (14), catecholamine metabolites (15), among others (1, 2). From the development of the real-time quantitative PCR analysis (RT-qPCR), quantitative gene expression analysis has become an important tool in the search for biomarkers (14, 16–18). Both serotonin transporter (SERT) and p11 are proteins closely related to stress and depression (19–21). In lymphocytes of depressed patients, the increased gene expression of SERT (16, 18, 22) has been reported; meanwhile, p11 has been identified as a regulator of depressive-like behavior in animal models, showing a depressant (23) or anti-depressant (24) activity, depending on the brain region in which it is expressed. Moreover, the brain regions of subjects who have attempted suicide have shown reductions in p11 mRNA levels (24), and the protein has been proposed as a biomarker of post-traumatic stress disorder (PTSD) (20).

In this brief research report, we analyzed the gene expression of SERT and p11 in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and measured the serum levels of serotonin in airline pilots compared to depressed patients and healthy volunteers. We found an increase in the gene expression of SERT and p11 in the PBMCs of airline pilots, as well as a decreasing trend in their serum serotonin levels.

MATERIALS AND METHODS

Participant Recruitment

Airline pilots (AP), healthy volunteers (HV), and patients with depression (MDD) were recruited from 2015 to 2017 according

to the protocol NCI6044.0. All the participants agreed to participate in this study and signed the informed consent forms. They were evaluated by a certified psychiatrist applying the MMSE (Mini-Mental State Examination), BDI (Beck Depression Inventory), and HDRS (Hamilton Depression Rating Scale). The protocol NCI6044.0 was approved by the corresponding research and ethics committees of the Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM), according to the international guidelines. The AP were recruited at the Secretaría de Comunicaciones y Transportes (SCT), Mexico, while HV and MDD were recruited at the INPRFM and Hospital Psiquiátrico Fray Bernardino Álvarez, Mexico. The inclusion and exclusion criteria are described in the flow diagram of Figure 1.

PBMCs and RNA Isolation

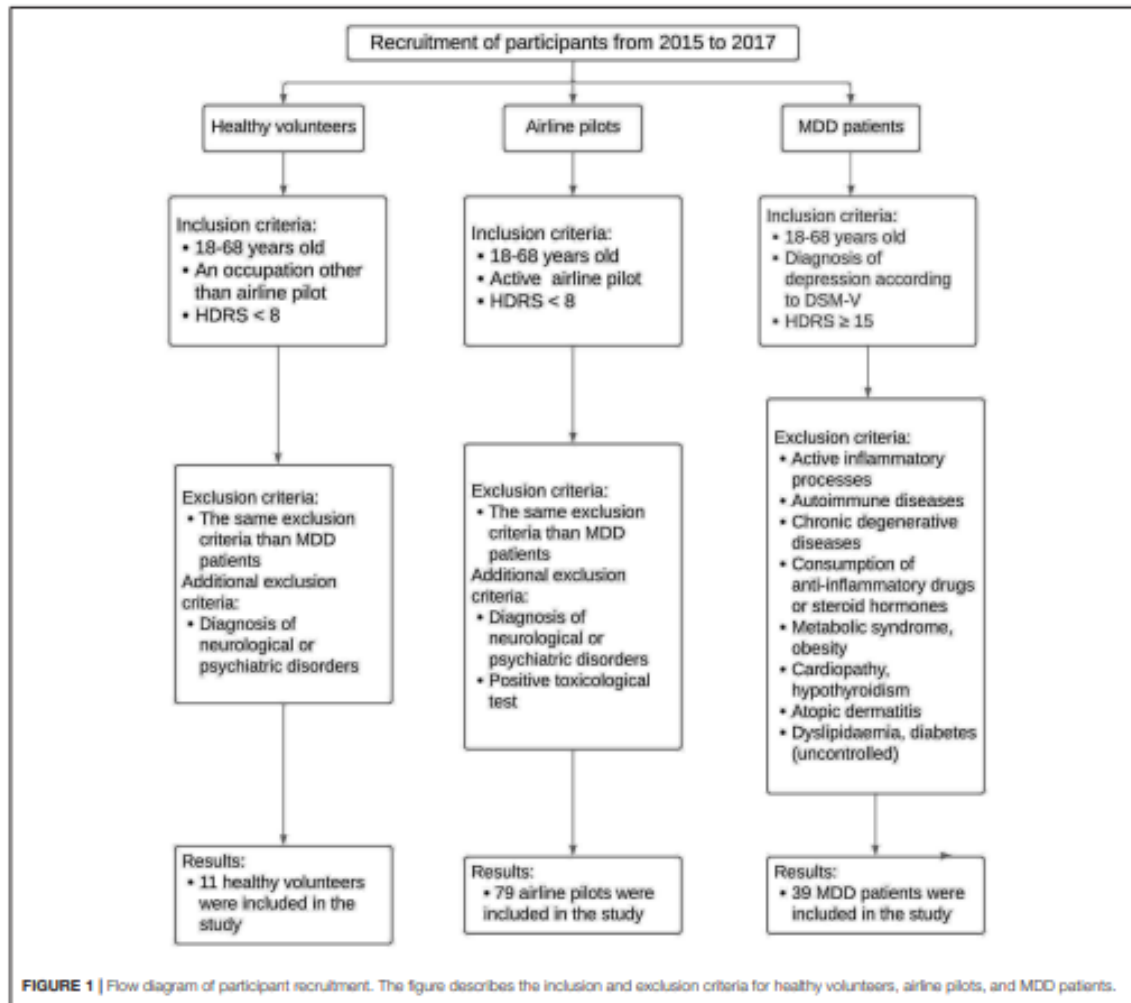
We collected peripheral blood samples (10 mL) in tubes with sodium heparin (Becton Dickinson Vacutainer®, USA) by venepuncture. We isolated PBMCs using Ficoll-Histopaque (Histopaque-1077, Sigma-Aldrich) according to the manufacturer's instructions. PBMC isolation was performed within 2 h after blood sample collection. Immediately, the PBMC-containing pellet was homogenized in 1 mL TRIzol® and RNA isolation was performed according to the manufacturer's instructions. Samples were then stored at -80°C until cDNA synthesis.

Quantitative PCR of Serotonin Transporter and p11

The cDNA was synthesized from 1 μg total RNA pre-treated with 1 μL (1 U) DNase I (Invitrogen). Reverse transcription was performed using 1 μL (200 U) of MMLV reverse transcriptase (PROMEGA) according to the manufacturer's instructions. All qPCR reactions performed used 50 ng cDNA as template. The probes we used were Hs00169010_m1 (*SLC6A4*: gene name of serotonin transporter), Hs00751478_s1 (*S100A10*: gene name of p11), and Hs01060665_g1 (*ACTB*: gene name of β -actin), as well as TaqMan® Master Mix (ThermoFisher®). All assays were made in duplicate using CFX96™ REAL TIME SYSTEM® (BIORAD). We evaluated the system suitability for each qPCR assay by the R^2 (≥ 0.99) and PCR efficiency (90–110%) parameters. The quantitative analysis was performed with the $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ method (25), using the ΔCt mean of healthy volunteers as a calibrator to calculate the $\Delta\Delta\text{Ct}$.

Serum Serotonin Quantification by Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry

We measured serum levels of serotonin by reversed-phase Ultra High Performance Liquid Chromatography Electrospray-Ionization High Resolution Mass Spectrometry (UPLC-ESI-HRMS). Because not all serum samples were available, only 18 depressed patients, 14 airline pilots, and 7 healthy volunteers were included in this analysis. Firstly, we processed serum samples (1 mL) by adding 1 mL of a solution containing 5% citric acid, 2.5 mM L-lysine, and 2.5 mM EDTA. Then, proteins



were precipitated with 200 μL 2.4 M perchloric acid at -20°C for 20 min. We obtained the supernatant containing serotonin by centrifugation at $14,000 \times g$ at 4°C for 15 min. After that, the serotonin was trapped and cleaned by solid phase extraction (SPE) using C_{18} cartridges (ThermoFisher[®]) and eluted with 250 μL acetonitrile. The serotonin extracts were vacuum dried and stored at -80°C until UPLC-ESI-HRMS analysis. Secondly, we resuspended serotonin extracts with 125 μL 0.1% (v/v) aqueous formic acid and filtered them through 0.22 μm PTFE membrane. We carried out the determination of serotonin (5-HT) by reversed-phase UPLC-ESI-HRMS according to the previous report (26) with modifications. In brief, we performed the analysis in an Acquity UPLC I-Class System (Waters) coupled to a Synapt G2-Si HDMS Q-TOF mass spectrometer (Waters) fitted with an ESI source. The LC-MS system and data were

manipulated by MassLynx 4.1 software (Waters). The sample (5 μL) was injected onto a Luna Omega 1.6 μm C18 (2.1 \times 150 mm, Phenomenex) using an isocratic separation with mobile phase composed of 4% (v/v) methanol in 0.1% aqueous formic acid delivered at a flow rate of 0.20 mL/min maintained at 40°C . The analysis time was 8 min and the column was cleaned between injections with 80% (v/v) methanol in 0.1% aqueous formic acid for 2 min. Ionization was performed in positive mode under the following conditions: capillary voltage, 3,000 V; capillary temperature, 120°C ; sampling cone, 30 V; desolvation temperature, 300°C ; and desolvation gas, 800 L/h. Full-scan mass spectra were acquired from 50 to 1,200 Da with acquisition data rate of 0.4 s and were corrected using leucine enkephalin as lock mass. For 5-HT quantification, the molecular ion $[\text{M}+\text{H}-\text{NH}_3]^+$ with exact mass 160.0762 was monitored.

Statistical Analysis

We performed a normality test using the Kolmogorov-Smirnov test for all data. The results of psychiatric tests, qPCR, HPLC-mass spectrometry, and demographic data were analyzed by the non-parametric Kruskal-Wallis and Dunn's multiple comparison tests. Correlation analysis were done following Spearman's correlation. All the statistical analyses were performed using GraphPad Prism version 8.0.0 for Windows (GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com). Significance was established when $p < 0.05$.

RESULTS

Participants and Demographic Data

We recruited a total of 146 airplane pilots from 2015 to 2017; however, 67 were excluded since they did not meet the inclusion criteria, and the final number of airline pilots was 79. Moreover, we recruited 11 healthy volunteers and 39 patients with diagnosis of major depressive disorder (MDD) that met the inclusion criteria (Figure 1). Table 1 shows the demographic data from healthy volunteers, airline pilots, and MDD patients.

Psychiatric Tests

No airline pilot or healthy volunteer was diagnosed with depression, or any other psychiatric disorder, according to the results of MMSE, BDI, and HDRS tests. As expected, depressed patients had significantly higher scores in BDI ($p < 0.001$) and HDRS ($p < 0.001$) as compared to airline pilots and healthy volunteers (Table 1). We found no significant correlation ($R \geq 0.8$) between psychiatric scores of HDRS and BDI and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ values of p11 or SERT.

Elevated mRNA Levels of SERT and p11 in PBMCs of Airline Pilots and Depressed Patients

The RT-qPCR analysis showed that the expression of SERT was significantly higher in depressed patients ($p < 0.001$) and airline pilots ($p < 0.001$) as compared to healthy volunteers, with mean (standard error of mean) $2^{-\Delta\Delta Ct}$ values of 101.3 (29.0), 13,986 (9,129), and 1.65(0.51), respectively (Figure 2A). The expression of p11 was also significantly higher in depressed patients ($p < 0.01$) and airline pilots ($p < 0.001$) compared to healthy volunteers, with mean $2^{-\Delta\Delta Ct}$ values of 44.52 (18.29), 4,740 (2,785), and 1.34 (0.31), respectively (Figure 2B).

Serum Levels of Serotonin by UPLC-ESI-HRMS

We identified the full scan ESI-HRMS spectrum for serotonin, and it is shown in the Supplementary Figure 1. We found, as expected, that serum serotonin levels were significantly lower in depressed patients compared to airline pilots ($p < 0.001$) and healthy volunteers ($p < 0.001$), with mean values (standard error of mean) of 11.05 (2.54), 38.48 (6.27), and 58.42 ng/mL (17.75), respectively (Figure 3). Furthermore, we noted that the serum serotonin levels of airline pilots had a decreasing trend,

although they were not statistically different or as low as those of depressed patients.

DISCUSSION

Since 1972, there have been 14 fatal events worldwide caused by the suicide of pilots while in flight, resulting in 562 deaths (27). Hence, airline pilots' mental health becomes particularly relevant in terms of aviation security. Factors such as the heavy workload and the frequent exposure to jet lag could contribute to a high level of stress and affect pilots' emotional stability. Stress and depression have such a close and strong relationship that the animal models used to study depressive disorders are based on stress models (28). Because of the stressful life of pilots (9), we decided to study their gene expression of SERT and p11 and their serum serotonin levels and compare them to those of depressed patients and healthy volunteers.

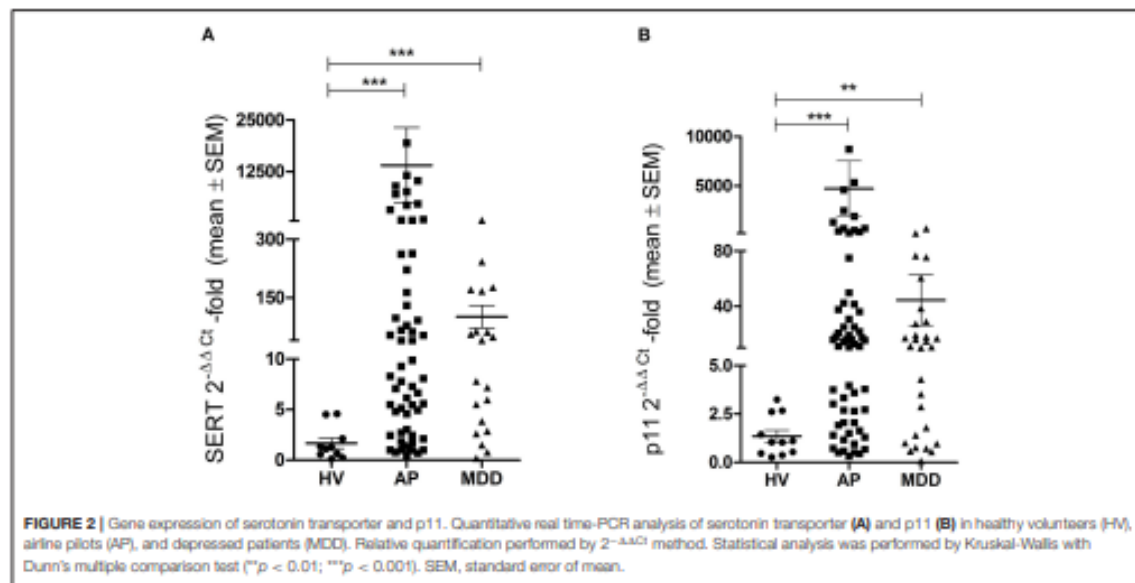
Our results showed that, as expected, HDRS and BDI scores were significantly higher in depressed patients than healthy volunteers and airline pilots. We must highlight that HDRS is a clinician-rated test, whereas BDI is a self-rated test. Thus, in HDRS, interpreting the psychiatrist is critical, while in BDI, the patient's perception of their symptoms is the most important. Moreover, many items of the HDRS scale focus on somatic symptoms of major depression, while BDI detects subjective/cognitive factors scarcely represented in HDRS (29, 30). The interpretive value required by clinical scales has motivated many authors to search for molecular parameters that may be useful in clinical diagnosis in conjunction with the psychiatric scales currently used.

In this sense, we found that airline pilots and depressed patients showed elevated mRNA levels of SERT and p11, compared to healthy volunteers. SERT and p11 have been strongly associated with stress and depression. Increased mRNA levels of SERT have been reported in lymphocytes of depressed patients (16, 18, 22); in contrast, other studies have reported reduced levels of the protein (21). Depressed patients have also been reported to show significantly reduced protein levels of SERT in brain regions such as the amygdala, striatum, and brainstem (31). Until now, the reason for the discrepancy between reduced protein levels and increased mRNA levels that have been reported in different works has not been fully clarified. For its part, p11 plays a role as a pharmacological mediator of antidepressants and regulator of serotonin receptor signaling and neurogenesis (19). Moreover, p11 has been proposed as a biomarker of post-traumatic stress (20). Recent studies using models of chronic unpredictable stress in mice have demonstrated the important role of p11 and epigenetic changes in its promoter in the development of depressive-like behavior (32). There is evidence that p11 interacts with 5-HT_{1B} and 5-HT₄ serotonin receptors and modulates their function (33–35) besides inducing the expression of 5-HT₄, but there is no evidence of the direct interaction between p11 and SERT.

TABLE 1 | Demographic data and psychiatric tests of healthy volunteers, Airline pilots, and MDD patients.

Group	n	Age: mean (SEM)	Gender: female/male	HDRS: mean (SEM)	BDI: mean (SEM)
Healthy V (HV)	11	29.82 (1.39)	3/8	0.72 (0.42)	1.54 (0.83)
A. Pilots (AP)	79	37.32 (1.31)	2/77	1.92 (0.10)	0.87 (0.17)
Patients (MDD)	39	35.08 (1.75)	31/8	23.87 (1.06)***	29.97 (1.50)***

*** $p < 0.001$: MDD vs. HV and MDD vs. AP.

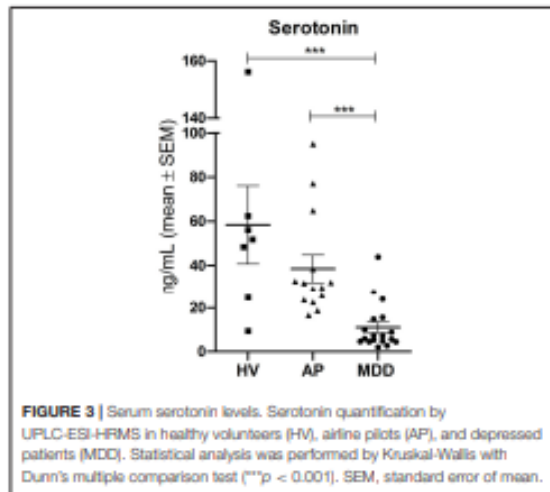


To our knowledge, this is the first work to report high mRNA levels of SERT and p11 in PBMC from airline pilots. Both genes are related to depression (16, 19) and play key roles in the functioning and regulation of the serotonergic system (35, 36). A dysfunctional serotonergic system leads to abnormal neurotransmission and the development of psychiatric disorders. Although our study was performed on peripheral blood cells, some authors have proposed that alterations in PBMC could be a reflection of alterations in the central nervous system (CNS) (37–39).

On the other hand, although the serotonin levels in airline pilots were not statistically different from those in healthy volunteers, we want to highlight that its decreasing trend is concerning. Serotonin is an important neurotransmitter with many physiological effects, and its proper functioning is necessary for mental health (40–42). Interestingly, depressive and suicide attempt patients have been reported to show low serum serotonin levels (43). Postmortem studies have revealed that 20% of pilots who died in fatal accidents had psychopathology or used selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), but this was not reported in their latest medical examinations

(44, 45). However, it has been shown that pilots who spend many hours flying per week and are frequently exposed to jet lag or alterations in their circadian rhythm are more likely to experience depressive or anxious symptoms (46, 47). In fact, pilots themselves have associated their fatigue with sleep deprivation and a heavy workload (48). Airline pilots are likely to deny their depressive symptoms or the use of antidepressants for fear of being suspended from work, posing a great risk to aviation. This triggers alarms in terms of aviation security and points out the importance of paying greater attention to the health of the aviation guild and the improvement of their working conditions. In addition, some reports have highlighted the lack of social support as a factor contributing to the deterioration of the pilots' mental health (9, 11).

Although our groups are unbalanced and heterogeneous, the sample size effect in our study is small when comparing MDD vs. AP. There are more women in the MDD group, but they are a minority in airline pilots and healthy volunteers. This is mainly due to the nature of the groups: Depression is higher in females than males, while most airline pilots are male. We are aware further studies are required in a larger and more diverse



cohort; however, we cannot change the gender proportions of the groups, since this is a natural phenomenon. The issue of the differential sensitivity between men and women to develop mood disorders has been addressed by Kendler et al. (49). Kendler et al. reported that males are prone to suffer from introjective depression and females from anaclitic depression. Men are more likely to be emotionally invested in job and financial success; thus, the stress due to occupational activities (49), as in the case of airline pilots, could seriously affect their mental health.

In conclusion, in this brief research report, we show that airline pilots and depressed patients have similar alterations in their SERT and p11 profiles, distinguishing them from healthy volunteers. These alterations in airline pilots could be related to professional stress. Notably, this is the first SERT and p11 screening in this guild, and this work's prospects are to explore their potential as biomarkers in a larger and more diverse cohort.

LIMITATIONS OF THE STUDY

Future studies should consider the effect of sample size. Notably, there are more women in the group of patients with MDD while they are a minority in airline pilots and healthy volunteers. This is mainly due to the nature of the groups. We only use one housekeeping gene: β -actin. Due to their small size, platelets are a potential contaminant of PBMC. Still, the content of mRNA in platelets is considerably less than that of leukocytes; therefore, this greatly reduces contamination by genetic material.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The original contributions presented in the study are included in the article/Supplementary Materials, further inquiries can be directed to the corresponding authors.

ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz, México. Protocol: NC16044.0; Ref. CEI/C/081/2015. The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

LP, JJ-A, and GP-S: conceptualization. EB-V and MO-A: first draft of manuscript and experiments and data analysis. GP-S and EB-V: review and correction of manuscript. EB-V, MO-A, and SA-H: RT-qPCR experiments. SA-H and JLM: mononuclear cells and serum sample processing from patients and healthy volunteers. AL-T and OR-M: UHPLC-Mass spectrometry analysis. JJ-A: supervision and coordination of airline pilots' participation and depressed patients' participation. JM-C, OG-R, and JN-F: general administration and approval of the participation of airline pilots. MO-A and HS-G: mononuclear cells and serum sample processing of airline pilots. JJ-G, DM-C, AV-B, and AT-S: clinical evaluation of the participants. LP and GP-S: data curation and statistical analysis. LP: funding acquisition. All authors approved the final version of this manuscript.

FUNDING

This research was funded by the Ramón de la Fuente Muñiz National Institute of Psychiatry; SECITI: NC150048, SECITI (SECITI 0048/2014), CONACyT, FOSISS: SALUD-2017-1-289800 (NC16044.0), and CONACyT # INFRA-2015-01-252013.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank José Valente Aguilar Zinser, Yessica Chaparro González, and Roberto Cepeda González for their support during their administration for the correct development of this work and Alberto Fernandez for his support in the transportation of samples from SCT to INPRFM. We appreciate the assistance of Erick Hernandez, Rosendo Del Angel, Ericka Flores Ortega, and Elinth Juárez Cruz in the sample collection. We thank Dr Francisco de la Pena for the careful and critical review of this work. We appreciate the assistance of Rosendo Del Angel in the literature collection.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsy.2022.859768/full#supplementary-material>

Supplementary Figure 1 | Full scan ESI-HRMS spectrum for serotonin. The most abundant peak (160.0762 m/z) corresponds to the fragmented ion of serotonin, whereas the base abundant (177.1023 m/z) corresponds to the precursor ion.

REFERENCES

- Pérez-Sánchez G, Becerril-Villanueva E, Arreola R, Martínez-Levi G, Hernández-Gutiérrez ME, Velasco-Velázquez MA, et al. Inflammatory profiles in depressed adolescents treated with fluoxetine: an 8-week follow-up, open study. *Mediat Inflamm.* (2018) 2018:4074051. doi: 10.1155/2018/4074051
- Becerril-Villanueva E, Pérez-Sánchez G, Alvarez-Herrera S, Girón-Pérez MI, Arreola R, Cruz-Fuentes C, et al. Alterations in the levels of growth factors in adolescents with major depressive disorder: a longitudinal study during the treatment with fluoxetine. *Mediat Inflamm.* (2019) 2019:9130868. doi: 10.1155/2019/9130868
- de la Peña FR, Cruz-Fuentes C, Palacios L, Girón-Pérez MI, Medina-Rivero E, Ponce-Regalado MD, et al. Serum levels of chemokines in adolescents with major depression treated with fluoxetine. *World J Psychiatry.* (2020) 10:175–86. doi: 10.5498/wjpw.v10.i8.175
- Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature.* (2008) 455:894–902. doi: 10.1038/nature07455
- Villas Boas GR, Boerngen de Lacerda R, Paes MM, Gubert P, Almeida WLDC, Rescia VC, et al. Molecular aspects of depression: a review from neurobiology to treatment. *Eur J Pharmacol.* (2019) 851:99–121. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.02.024
- Hussain SA, Malik MZ, Menezes RG. The airplane crash in the French Alps: a preventable tragedy. *Avian J Psychiatr.* (2015) 17:109–10. doi: 10.1016/j.ajp.2015.07.015
- EASA. *Task Force on Measures Following the Accident of Germanwings Flight 9525 Final Report.* Cologne: EASA (2015). p. 1–19.
- Indah Suci W. High level of work stressors increase the risk of mental-emotional disturbances among airline pilots. *Med J Indonesia.* (2007) 16:117–21. doi: 10.13181/mji.v16i2.267
- Cooper CL, Sloan S. Occupational and psychosocial stress among commercial aviation pilots. *J Occup Med.* (1985) 27:570–6. doi: 10.1097/00043764-198508000-00014
- Bancher JN. Assessing pilots with “the wrong stuff”: a call for research on emotional health factors in commercial aviators. *Int J Select Assess.* (2002) 10:168–84. doi: 10.1111/1468-2389.00204
- Pasha T, Stokes PRA. Reflecting on the German wings disaster: a systematic review of depression and suicide in commercial airline pilots. *Front Psychiatry.* (2018) 9:86. doi: 10.1038/s41598-018-21243-x
- Lim GY, Tam WW, Lu Y, Ho CS, Zhang MW, Ho RC. *Prevalence of Depression in the Community from 30 Countries between 1994 and 2014 OPEN.*
- Papakostas GI, Shelton RC, Kinrys G, Henry ME, Bakow BR, Lipkin SH, Pi B, et al. Assessment of a multi-assay, serum-based biological diagnostic test for major depressive disorder: a Pilot and Replication Study. *Mol Psychiatry.* (2013) 18:332–9. doi: 10.1038/mp.2011.166
- Spijker S, Van Zanten JS, De Jong S, Penninx BWJH, Van Dyck R, Zitman FG, et al. Stimulated gene expression profiles as a blood marker of major depressive disorder. *Biol Psychiatry.* (2010) 68:179–86. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.03.017
- Quinones MP, Kaddurah-Daouk R. Metabolomics tools for identifying biomarkers for neuropsychiatric diseases. *Neurobiol Dis.* (2009) 35:165–76. doi: 10.1016/j.nbd.2009.02.019
- Iga J, Ueno S, Yamauchi K, Motoki I, Tayoshi S, Ohta K, et al. Serotonin transporter mRNA expression in peripheral leukocytes of patients with major depression before and after treatment with paroxetine. *Neurosci Lett.* (2005) 389:12–6. doi: 10.1016/j.neulet.2005.06.048
- Hegglund N, Cattaneo A, Zunszain PA, Pariante CM. Depression pathogenesis and treatment: what can we learn from blood mRNA expression? *BMC Med.* (2013) 11:28. doi: 10.1186/1741-7015-11-28
- Watanabe SY, Iga JI, Ishii K, Numata S, Shimodera S, Fujita H, et al. Biological tests for major depressive disorder that involve leukocyte gene expression assays. *J Psychiatr Res.* (2015) 66–67:1–6. doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.03.004
- Svenningsson P, Kim Y, Warner-Schmidt J, Oh YS, Greengard P. P11 and its role in depression and therapeutic responses to antidepressants. *Nat Rev Neurosci.* (2013) 14:673–80. doi: 10.1038/nrn3564
- Zhang L, Ursano RJ, Li H. P11: a potential biomarker for posttraumatic stress disorder. *Methods Mol Biol.* (2012) 829:453–68. doi: 10.1007/978-1-61779-458-2_29
- Lima L, Urbina M. Serotonin transporter modulation in blood lymphocytes from patients with major depression. *Cell Mol Neurobiol.* (2002) 22:797–804. doi: 10.1023/A:1021869310702
- Tsao CW, Lin YS, Chen CC, Bai CH, Wu SR. Cytokines and serotonin transporter in patients with major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* (2006) 30:899–905. doi: 10.1016/j.pnpb.2006.01.029
- Seo JS, Zhong P, Liu A, Yan Z, Greengard P. Elevation of p11 in lateral habenula mediates depression-like behavior. *Mol Psychiatry.* (2018) 23:1113–9. doi: 10.1038/mp.2017.96
- Warner-Schmidt JL, Schmidt EF, Marshall JJ, Rubin AJ, Arango-Lievano M, Kaplitt MG, et al. Cholinergic interneurons in the nucleus accumbens regulate depression-like behavior. *Proc Natl Acad Sci USA.* (2012) 109:11360–5. doi: 10.1073/pnas.1209293109
- Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc.* (2008) 3:1101–8. doi: 10.1038/nprot.2008.73
- Korse CM, Buning-Kager JCGM, Linders TC, Heijboer AC, van den Broek D, Tesselar MET, et al. A serum and platelet-rich plasma serotonin assay using liquid chromatography tandem mass spectrometry for monitoring of neuroendocrine tumor patients. *Clinica Chimica Acta.* (2017) 469:130–5. doi: 10.1016/j.cca.2017.04.001
- Aviation Safety Network. *1996–2017 Aviation Safety Database.* Alexandria, VA: Aviation Safety Network (2016).
- Willner P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: history, evaluation and usage. *Neurobiol Stress.* (2016) 6:78–93. doi: 10.1016/j.ynstre.2016.08.002
- Milak MS, Keilp J, Parsey RV, Oquendo MA, Malone KM, Mann JJ. Regional brain metabolic correlates of self-reported depression severity contrasted with clinician ratings. *J Affect Disord.* (2010) 126:113–24. doi: 10.1016/j.jad.2010.03.002
- Linden M, Borchelt M, Barnow S, Geiselmann B. The impact of somatic morbidity on the Hamilton Depression Rating Scale in the very old. *Acta Psychiatr Scand.* (1995) 92:150–4. doi: 10.1111/j.1600-0447.1995.tb09559.x
- Kambeitz JP, Howes OD. The serotonin transporter in depression: meta-analysis of *in vivo* and post mortem findings and implications for understanding and treating depression. *J Affect Disord.* (2015) 186:358–66. doi: 10.1016/j.jad.2015.07.034
- Seo MK, Choi AJ, Seog D-H, Lee JG, Park SW. Early enriched environment prevents epigenetic p11 gene changes induced by adulthood stress in mice. *Int J Mol Sci.* (2021) 22:1928. doi: 10.3390/ijms22041928
- Zhang X, Andren PE, Greengard P, Svenningsson P. Evidence for a role of the 5-HT1B receptor and its adaptor protein, p11, in L-DOPA treatment of an animal model of Parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci USA.* (2008) 105:2163–8. doi: 10.1073/pnas.0711839105
- Svenningsson P, Chergui K, Rachleff I, Hajolet M, Zhang X, El Yacoubi M, et al. Alterations in 5-HT1B receptor function by p11 in depression-like states. *Science.* (2006) 311:77–80. doi: 10.1126/science.1117571
- Warner-Schmidt JL, Flajolet M, Maller A, Chen EY, Qi H, Svenningsson P, et al. Role of p11 in cellular and behavioral effects of 5-HT4 receptor stimulation. *J Neurosci.* (2009) 29:1937–46. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5343-08.2009
- Szilösi D, Stockner T. Investigating the mechanism of sodium binding to SERT using direct simulations. *Front Cell Neurosci.* (2021) 15:165. doi: 10.3389/fncel.2021.673782
- Iga JI, Ueno SI, Ohmori T. *Molecular Assessment of Depression from mRNAs in the Peripheral Leukocytes.* doi: 10.1080/07853890802082088
- van Heerden J, Conesa A, Stein D, Montaner D, Russell V, Illing N. Parallel changes in gene expression in peripheral blood mononuclear cells and the brain after maternal separation in the mouse. *BMC Res Notes.* (2009) 2:1–10. doi: 10.1186/1756-0500-2-195
- Arosio B, D’Addario C, Gussago C, Casati M, Tedone E, Ferri E, et al. Peripheral blood mononuclear cells as a laboratory to study dementia in the elderly. *BioMed Res Int.* (2014) 2014:169203. doi: 10.1155/2014/169203
- Manchia M, Carpiniello B, Valtorta F, Comai S. Serotonin dysfunction, aggressive behavior, and mental illness: exploring the link using

- a dimensional approach. *ACS Chem Neurosci.* (2017) 8:961–72. doi: 10.1021/acscchemneuro.6b00427
41. Mohammad-Zadeh LF, Moses L, Gwaltney-Brant SM. Serotonin: a review. *J Vet Pharmacol Ther.* (2008) 31:187–99. doi: 10.1111/j.1365-2885.2008.00944.x
42. Arreola R, Becerril-Villanueva E, Cruz-Fuentes C, Velasco-Velázquez MA, Garcés-Alvarez ME, Hurtado-Alvarado G, et al. Immunomodulatory effects mediated by serotonin. *J Immunol Res.* (2015) 2015:354957. doi: 10.1155/2015/354957
43. Saldanha D, Kumar N, Ryali VSSR, Srivastava K, Pawar AA. Serum serotonin abnormality in depression. *Med J Armed Forces India.* (2009) 65:108–12. doi: 10.1016/S0377-1237(09)80120-2
44. Akin A, Chaturvedi AK. Selective serotonin reuptake inhibitors in pilot fatalities of civil aviation accidents, 1990-2001. *Aviat Space Environ Med.* (2003) 74:1169–76. doi: 10.1037/e734372011-001
45. Sen A, Akin A, Canfield DV, Chaturvedi AK. Medical histories of 61 aviation accident pilots with postmortem SSRI antidepressant residues. *Aviation Space Environ Med.* (2007) 78:1055–9. doi: 10.3357/ASEM.2030.2007
46. O'Hagan AD, Issartel J, Nevill A, Warrington G. Flying into depression. *Workplace Health Safety.* (2017) 65:109–17. doi: 10.1177/2165079916659506
47. Walker WH, Walton JC, DeVries AC, Nelson RJ. Circadian rhythm disruption and mental health. *Transl Psychiatry.* (2020) 10:1–13. doi: 10.1038/s41398-020-0694-0
48. Reis C, Mestre C, Canhão H, Gradwell D, Paiva T. Sleep complaints and fatigue of airline pilots. *Sleep Sci.* (2016) 9:73–7. doi: 10.1016/j.slsci.2016.05.003
49. Kendler KS, Gardner CO. Sex differences in the pathways to major depression: a study of opposite-sex twin pairs. *Am J Psychiatry.* (2014) 171:426–35. doi: 10.1176/appi.ajp.2013.13101375

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2022 Becerril-Villanueva, Ojvera-Alvarez, Alvarez-Herrera, Maldonado-García, López-Torres, Ramírez-Marroquín, González-Ruiz, Nogueira-Fernández, Menduza-Contreras, Sánchez-García, José-Ajullo, Valencia Baños, Torres-Serrano, Jiménez-Genchi, Mendieta-Cabrera, Pérez-Sánchez and Pavón. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.