

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE PSICOLOGÍA MÉDICA,
PSIQUIATRÍA Y SALUD MENTAL**

**INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA
“RAMÓN DE LA FUENTE”**

Determinación del mensaje genético de citocinas pro-inflamatorias y transportador de serotonina en pacientes deprimidos tratados con un inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina

TESIS DE ESPECIALIDAD EN PSIQUIATRÍA QUE PRESENTA:

DRA. PATRICIA ZAVALETA RAMÍREZ

Asesores:

Dr. Carlos Berlanga Cisneros

Dra. Danelia Mendieta Cabrera

MAYO DEL 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto “Estudio de la expresión génica del 5-HTT e interleucinas proinflamatorias en PBMC durante el tratamiento con ISRS en pacientes con depresión mayor”, apoyado por el Instituto de Ciencia y Tecnología del DF, convocatoria 2007, el cual se efectúa bajo la dirección y supervisión del Dr. Lenin Pavón Romero en el laboratorio de psicoimmunología de la Dirección de investigación en Neurociencias en el INPRF.

A la Dra. Danelia Mendieta por su tiempo y su constante asesoría.

Al Dr. Lennin Pavón y su equipo de colaboradores por el apoyo brindado para la realización de los estudios.

A Edgar, por acompañarme en este proceso de formación académica, por tus sugerencias a mi trabajo y por tu apoyo incondicional.

INDICE

ANTECEDENTES

Capítulo 1: Trastorno Depresivo Mayor: definición y epidemiología_____ 4

Capítulo 2: Etiología de la depresión: teorías y sistemas biológicos_____ 6

Aminas biógenas:

Noradrenalina

Serotonina.

Transportador de serotonina

Sistema endocrino

Sistema inmunológico

Capítulo 3: Interacciones Neuroendocrinoinmunológicas_____ 13

Capítulo 4: ¿Por qué estudiar el mensaje genético de 5-HTT y citocinas pro-inflamatorias en linfocitos?_____ 16

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 18

JUSTIFICACIÓN 18

OBJETIVOS 18

HIPÓTESIS 19

TIPO DE ESTUDIO 19

MATERIAL Y MÉTODOS 19

A) Población de estudio, selección y tamaño de la muestra

B) Escalas Clínicas

C) Seguimiento Clínico

D) Procesamiento del Mensaje Genético

E) Análisis estadístico

RESULTADOS 26

DISCUSIÓN 31

CONCLUSIONES 33

BIBLIOGRAFÍA 34

ANEXOS 38

CAPÍTULO 1

Trastorno Depresivo Mayor: definición y epidemiología.

De acuerdo con el DSM-IVTR el trastorno depresivo mayor (también llamado depresión unipolar), es una alteración del estado de ánimo que dura al menos dos semanas y que se caracteriza por tristeza todos los días, la mayor parte del día, anhedonia, cambios en el apetito, en los hábitos de sueño así como en el nivel de energía, sentimientos de culpa y alteraciones cognitivas acompañadas de pensamientos recurrentes de muerte o de suicidio (Rush et al, 1995). Para establecer el diagnóstico se requiere cumplir con al menos 5 de los síntomas previamente mencionados. Estos síntomas alteran notoriamente el funcionamiento habitual de una persona y tienden a recurrir, a menudo de manera periódica o cíclica.

La media de edad de inicio del trastorno depresivo mayor es de 40 años y en el 50% de los casos comienza entre los 20 y 50 años aunque datos epidemiológicos recientes sugieren que la incidencia de esta enfermedad está aumentando en sujetos menores de 20 años y también puede comenzar en la infancia. Se ha demostrado una mayor prevalencia en personas sin relaciones interpersonales estrechas o separadas (Kaplan- S 2003).

La prevalencia del trastorno depresivo mayor en los Estados Unidos es del 15% y hasta del 25% en la mujeres. Su incidencia es del 10% en pacientes de atención primaria y del 15% en pacientes hospitalizados. Una observación casi universal, independiente del país o la cultura, es que el trastorno depresivo mayor tiene el doble de prevalencia en mujeres que en hombres (Kaplan- S 2003).

Los datos estadísticos con los que contamos en México derivan de la Encuesta Nacional de Epidemiología la cual reporta a los trastornos afectivos como el tercer padecimiento psiquiátrico mas frecuente (9.2%). La prevalencia reportada específicamente para el trastorno depresivo mayor de acuerdo al sexo es la siguiente: para alguna vez en la vida 4.5 para las mujeres y de 2.0 en hombres lo cual es consistente con reportes previos (Medina-Mora, et al 2003).

Otro estudio realizado en la ciudad de México por Caraveo y cols reportó una prevalencia de episodio depresivo mayor del 7.8% que corresponde a una tasa de 2.5 mujeres por cada varón (Caraveo et al, 1999). Finalmente el estudio mas reciente de publicación internacional reporta la prevalencia en cuatro ciudades de México del 12.8% a lo largo de la vida (Slone, 2006).

La depresión produce deterioro de la actividad física, de la actividad social y de la percepción actual de la salud, está asociada a mayor dolor corporal y hace que los pacientes pasen más días en cama por su escasa salud, en comparación con los pacientes que padecen hipertensión, diabetes, artritis y enfermedad pulmonar crónica (Wells KB, et al. 1989).

En Estados Unidos de Norteamérica los costos directos del tratamiento de la depresión son de aproximadamente 12.000 millones de dólares, de los cuales 890 se destinan al pago de antidepressivos. El costo de la morbilidad de los trastornos depresivos es alrededor de 24.000 millones y los costos de la mortalidad ascienden a 8.000 millones (Hall RC et al, 1995); aunque no contamos con estos datos en México, podemos deducir que la depresión en nuestro país también genera pérdidas económicas elevadas al afectar a la población económicamente activa y por los altos costos erogados para su tratamiento

CAPÍTULO 2

ETIOLOGÍA DE LA DEPRESIÓN: Teorías y Factores Biológicos

TEORÍA DE AMINAS BIÓGENAS

Norepinefrina

Desde la década de los 60 se ha asociado a la depresión con una deficiencia de catecolaminas en ciertas regiones del cerebro. La primera de las aminas biógenas que se consideró como precursora de síntomas depresivos fue la norepinefrina, esto basado en dos evidencias primarias: 1) se encontró que la reserpina, un antihipertensivo que depleta las reservas de catecolaminas inducía depresión en algunos pacientes y 2) se encontró que los medicamentos antidepressivos elevaban la actividad de las catecolaminas en el cerebro (Sadek and Nemeroff, 2000; Bunney, 1965).

Durante los años siguientes se realizaron estudios basados en mediciones de orina y líquido cefalorraquídeo (LCR) de los niveles de 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG), un metabolito de la norepinefrina, así como de los receptores noradrenérgicos y sus cambios en el locus coeruleus (Ressler KJ, Nemeroff, 1999). Estos estudios confirmaron las alteraciones en el sistema de norepinefrina de pacientes deprimidos, principalmente una disminución de este neurotransmisor.

Sin embargo, estos resultados han sido materia de considerable debate ya que también se encontró que estas alteraciones no causaban depresión en todos los pacientes, pero sí claramente en aquellos que ya estaban predispuestos (Potter W, et al, 1983). Más aún, la depleción de catecolaminas no se ha reportado en todos los pacientes deprimidos (Potter W, et al. 1993) lo cual ha llevado a la búsqueda de otras aminas biógenas y sus implicaciones en la etiología de la depresión.

Serotonina

De manera paralela al estudio de las catecolaminas se desarrolló la teoría de las indolaminas como papel prominente en la etiología de la depresión. En la misma década se formuló la hipótesis que propuso que la depleción de serotonina (5-HT) causaba depresión, esto bajo el sustento de la investigación en modelos animales donde se encontró que es necesario un sistema serotoninérgico intacto para el óptimo funcionamiento de las neuronas noradrenérgicas (Goodwin, 1971).

Los argumentos mas recientes acerca de que la serotonina extracelular en el cerebro se encuentra disminuida durante un episodio depresivo mayor, están basados en la reversibilidad de los síntomas después del incremento de la serotonina con el uso de medicamentos antidepresivos (Tatsumi M, et al 1997; Owens MJ, 1997), así mismo existen estudios de imagen funcional que reportan disminución del estado del ánimo con paradigmas que disminuyen la serotonina cerebral, así como la presencia de un cambio en los índices de la densidad del receptor de serotonina en el suicidio y en episodios depresivos (Meyer JH, 2007; Purselle y Nemeroff, 2003; Stanley 1983;).

Como parte de esta teoría cabe mencionar también el triptófano, el aminoácido precursor de serotonina. Este aminoácido compite con otros para su entrada a través de la barrera hematoencefálica. Aunque se han reportado niveles bajos de triptófano en plasma y un índice bajo de triptófano/aminoácidos en pacientes con depresión (Maes et al. 1993) en un estudio mas reciente la depleción de triptófano no tuvo efecto en el ánimo de sujetos sanos que no tenían historia de depresión y solo el 50% de los sujetos que tenían historia previa de depresión experimentaron una recaída de sus síntomas (Delgado PL, Miller HL, 1991).

Adicionalmente, los pacientes que ya estaban deprimidos durante la depleción de triptófano no experimentaron cambios en la gravedad de sus síntomas, ante lo cual los investigadores argumentan que esta condición no es una explicación suficiente para la ocurrencia de depresión. Así mismo, dado que la hipótesis de las indolaminas no explica la razón del retraso en el efecto antidepresivo de la mayoría de los psicofármacos, se ha pensando que esto último dependa de alteraciones en los receptores de las monoaminas (Stahl 2002), por lo cual las investigaciones posteriores se han enfocado al estudio del receptor del transportador de serotonina.

Transportador de serotonina

El papel fisiológico del transportador de serotonina (5-HTT) es también de interés en el trastorno depresivo mayor (TDM) y en el tratamiento antidepresivo por su relación con la serotonina. En la actualidad se describen por lo menos siete diferentes sitios de unión para 5-HT, denominados 5-HT1a, 5HT-1b, 5-HT1c, 5-HT1d, 5HT1e, 5-HT2a, 5-HT2b, 5-HT2c, entre otros. Todos ellos distribuidos en distintas regiones cerebrales y con diferentes funciones neurofisiológicas, muchas de ellas asociadas con la conducta humana (Meyer JH, 2007).

Está claro que muchos fármacos antidepresivos que se ligan al transportador de serotonina incrementan los niveles extracelulares de esta sustancia; esto también se presenta en la investigación *in vivo* con ratones knockout, confirmando este planteamiento (Mathew TA, 2000). La manera en que ambos se regulan es a través de una relación inversa, siendo así que la densidad de los receptores de 5-HT₂ en la corteza cerebral incrementan después de la depleción crónica de serotonina extracelular y disminuyen después del incremento crónico de dicha sustancia (Stockmeier CA, 1986, O'Regan D, 1987; Roth BL, 1987; Todd KG, 1995).

Esto se ha corroborado en algunas investigaciones pos mortem confirmando una densidad elevada de 5-HT₂ en la corteza prefrontal de víctimas de suicidio (Arango V, 1990; 1992; Arora RC, 1989) así como en los sujetos con trastorno depresivo mayor (Hrdina PD, 1993; Mann JJ, 1986).

Tales estudios se han considerando el sustento de la hipótesis que plantea que los sujetos con trastorno depresivo mayor tienen bajas concentraciones de serotonina extracelular en la corteza prefrontal (Meyer JH, 2007). Ahora bien, la manera en que norepinefrina, serotonina, transportador de serotonina y citocinas interactúan será mencionado en los siguientes capítulos de esta investigación.

SISTEMA ENDOCRINO

La hiperactividad del eje hipotálamo – hipófisis – adrenal (HAA) en pacientes con depresión mayor es uno de los resultados mas consistentes en la psiquiatría biológica. Este sistema está conformado por la hormona liberadora de corticotropina (CRH), que a su vez estimula la secreción de corticotropina (ACTH) en la hipófisis, así como mineralocorticoides y esteroides andrógenos en la corteza suprarrenal. Los estímulos fisiológicos que aumentan la secreción de la ACTH son el estrés, la hipoglucemia y los niveles periféricos bajos de las hormonas que libera.

Las alteraciones específicas del sistema endocrino encontradas en pacientes con trastorno depresivo mayor consisten en: a) Incremento en las concentraciones de cortisol en plasma, orina y líquido cefalorraquídeo y b) Una respuesta incrementada del cortisol, de la hipófisis y las glándulas adrenales ante la hormona liberadora de corticotropina (Pariante and Miller, 2001).

Se piensa que estas alteraciones en el HHA son secundarias a una hipersecreción de la hormona liberadora de corticotropina ya que las concentraciones de esta se encuentran incrementados en el LCR de pacientes deprimidos. Así mismo, se ha encontrado en muestras por mortem, un incremento en el mensaje genético (RNAm) de CRH en el núcleo paraventricular del hipotálamo y una respuesta brusca de la ACTH ante los cambios de CRH, lo cual se ve reflejado en una regulación a la baja de los receptores de CRH en la

hipófisis (Nemeroff 1996). Resultados similares se ha encontrado en estudios realizados en víctimas de suicidio muchos de los cuales se presumía estaban deprimidos (Nemeroff, 1996).

La importancia de conocer que la CRH está incrementada se debe al reconocimiento de que esta hormona tiene efectos en la conducta de animales que semejan a la conducta que se observa en pacientes deprimidos, incluyendo alteraciones en el nivel de actividad, apetito y sueño (Pariante and Miller, 2001).

Aunque los mecanismos por los cuales los niveles de CRH extra hipotalámica están elevados en la depresión no han sido resueltos, se ha pensando que en parte están relacionados con una alteración en el sistema de supresión por retroalimentación negativa, el cual es regulado por glucocorticoides endógenos (Pariante and Miller, 2001). A través de ligarse a sus receptores específicos en los tejidos del HHA, los glucocorticoides endógenos funcionan como potentes inhibidores de la actividad del HHA incluyendo sobre la síntesis y liberación de CRH en el núcleo paraventricular.

Los datos que sustentan la idea de que el sistema de retroalimentación negativa está alterado en pacientes con depresión mayor provienen de una multitud de estudios que demuestran una falta de supresión en la secreción de cortisol posterior a la administración de dexametasona, un glucocorticoide sintético, es decir estos pacientes presentan un estado de hipercortisolemia crónico. Otros estudios mas recientes muestran una falta de respuesta a la inhibición de ACTH ante la CRH ante el pre tratamiento con dexametasona (Holboer and Barden 1996; Nemeroff 1996).

Aún más, se ha demostrando que la falla en la supresión del HHA con dexametasona también se presenta en familiares de primer grado de individuos deprimidos, sugiriendo que una alteración en el sistema de retroalimentación negativa puede representar una vulnerabilidad genética (rasgo) en el trastorno depresivo mayor (Pariante and Miller, 2001). Estos descubrimientos representaron un gran avance en el conocimiento de la etiología de la depresión dando lugar a la subsecuente investigación en el área de la inmunología por su conexión entre ambos sistemas.

SISTEMA INMUNOLÓGICO

En los últimos 20 años, el estudio de la etiología de la depresión también se ha enfocado a la respuesta inmunológica de los pacientes deprimidos, la idea de iniciar esta línea de investigación surgió a través de observar que la respuesta normal a la infección produce cambios fisiológicos similares a los que suceden en los pacientes deprimidos, los cuales serán explicados en los siguientes párrafos.

La respuesta normal a la infección produce cambios endocrinos, autonómicos y conductuales que están mediados por factores solubles que se conocen como citocinas pro – inflamatorias; las principales de ellas son la IL-1 α y β (IL-1 α , IL- β), el factor de necrosis tumoral- α (FNT- α) y la interleucina-6 (IL-6). Estas citocinas coordinan la respuesta inflamatoria local y sistémica ante los microbios patógenos. Aquellas que son producidas periféricamente también actúan en el cerebro para causar lo que se ha denominado “*sickness behavior*” (sin traducción al español), la cual es una respuesta que incluye fiebre, náuseas, disminución del apetito, alteraciones en el sueño, pérdida del interés en el ambiente social (Dantzer R et al, 2008). Las principales citocinas pro-inflamatorias involucradas en la conducta de enfermedad son la IL- β y FNT- α .

Así también, los experimentos farmacológicos han demostrado ampliamente que la administración sistémica o central de IL- β o FNT- α en ratones induce un comportamiento del espectro de la enfermedad dependiente de la dosis y el tiempo. En general, los ratones a los que se le inyecta IL- β o FNT- α permanecen en las esquinas de sus cajas en una postura encorvada y muestran poco o nulo interés en su ambiente físico y social a menos que ellos sean estimulados (Dantzer R, 2001). Específicamente ellos muestran disminución en la actividad motora, aislamiento social, reducción en la ingesta de alimentos, incremento del sueño delta y alteraciones cognitivas. Mas aún, algunos componentes de la conducta de enfermedad tales como una disminución en la preferencia por soluciones dulces y reducción en la exploración social se mejoran al recibir tratamiento antidepresivo (Dantzer R, 2001).

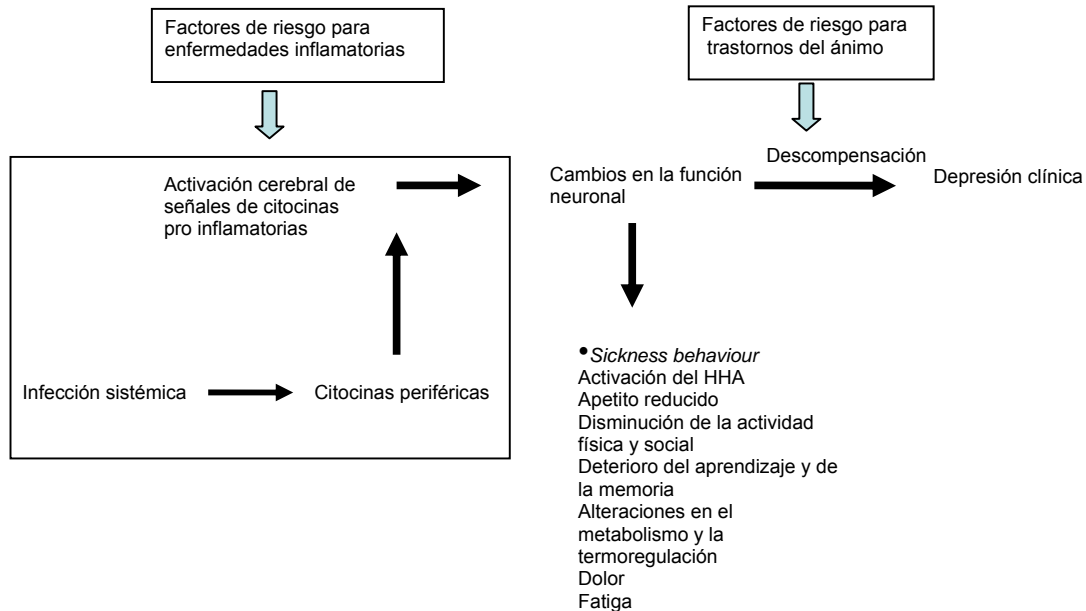
Con lo anterior, se destaca una asociación entre conducta de enfermedad y depresión debido a que comparten muchos de los síntomas. La evidencia de este concepto proviene de los estudios realizados en pacientes con alguna enfermedad médica en los cuales se utiliza la terapia con citocinas. En humanos, el trastorno depresivo mayor se desarrolla súbitamente en una tercera parte de los pacientes que son tratados con citocinas humanas recombinantes como la IL-2 o FNT- α (Wichers and Maes, 2002). Así también, se ha encontrado que el trastorno depresivo mayor es mas prevalente en pacientes enfermos de condiciones que llevan a inflamación tales como las enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2 y artritis reumatoide (Dantzer R, 2001).

El FNT- α ha sido utilizado como agente terapéutico en varias formas de cáncer, en la mayoría de los pacientes su administración induce un síndrome agudo similar al de la influenza, así como otros efectos secundarios gastrointestinales y hematológicos. Sin embargo, la razón más común para su discontinuación son los síntomas neuropsiquiátricos, tales como fatiga, hipersomnias, alteraciones en el sueño, irritabilidad, pérdida del apetito, pérdida de peso, ánimo bajo, todos estos relacionados con depresión, siendo así que el 36% de los pacientes tratados con FNT- α desarrollan un cuadro depresivo franco (Wichers and Maes, 2002). Sin embargo, la similitud entre conducta de enfermedad y depresión es solo parcial, mientras que la enfermedad es una respuesta adaptativa a la infección por patógenos y completamente reversible una vez que el patógeno ha sido eliminado, este no es el caso para la depresión.

Es posible que la depresión represente una versión desadaptativa de enfermedad inducida por citocinas, lo cual ocurriría cuando la activación de la respuesta inmunológica innata se exagera en intensidad y/o duración o que toma lugar en el contexto de la vulnerabilidad a la depresión en individuos con hiperactividad del circuito de liberación de factor liberador de corticotropina (Dantzer R et al, 2008) (Ver esquema 1). Es bajo este contexto que desde inicio de los años 90, Maes ha estudiado las alteraciones inmunológicas en sangre periférica de pacientes deprimidos construyendo la observación que los pacientes con depresión clínicamente severa o depresión melancólica tenían concentraciones aumentadas de biomarcadores de inflamación proponiendo la teoría de "proteínas de fase aguda".

Posteriormente otros autores han seguido esta línea de investigación siendo controversiales los resultados, ya que por un lado se ha encontrado una asociación significativa entre depresión mayor y alteración de la respuesta inmunológica tales como disminución de la fagocitosis de neutrófilos inducida por zymosan, disminución de la proliferación de linfocitos estimulados por mitógeno y de la actividad de células natural killer.

Figura 1. **Depresión como consecuencia de los mecanismos que regulan la enfermedad. Tomado de Dantzer, 2008.**



En contraste, otros autores han reportado aumento de las concentraciones de proteínas de fase aguda, de citocinas pro-inflamatorias en plasma (IL- β , IL-6, IFN- γ , FNT- α), de receptores solubles para citocinas (receptores de IL-2 e IL-6) y aumento en la producción de citocinas estimuladas por mitógeno en células mononucleares de sangre periférica (IL-1 β , IL-6, IFN- γ , FNT- α) de pacientes deprimidos (Tsao, 2006).

Los estudios realizados en México por el Dr. Pavón reportan niveles elevados de FNT- α , incremento de los porcentajes de CD3+, CD8+ (linfocitos citotóxicos) y células natural killer, así como una disminución en la cuenta de linfocitos B (productores de inmunoglobulinas) indicando predominio de la respuesta inmunológica mediada por linfocitos Th2, resultados que son consistentes con lo reportado en la literatura internacional (Pavón L, et al, 2006).

Con lo anterior podemos darnos cuenta que los estudios con estos parámetros inmunológicos son controversiales. Los autores han sugerido que las discrepancias entre los estudios posiblemente dependen de la evaluación de varios subtipos de depresión, diferencias en la severidad de la enfermedad, número limitado de muestras y el tratamiento con o sin medicación antidepresiva (Kronfol Z, 2002). Otros de los aspectos que pueden ser factores de confusión en los resultados son el índice de masa corporal, tabaquismo, consumo de alcohol, edad y sexo, ya que todos ellos influyen en los niveles de secreción de citocinas pudiendo alterar los resultados.

CAPÍTULO 3

INTERACCIONES NEUROENDOCRINOINMUNOLÓGICAS

Tomando en cuenta los antecedentes previamente mencionados, la propuesta actual respecto a la depresión es que tiene un origen multifactorial y que sus manifestaciones clínicas se deben a cambios anormales en el funcionamiento de neurotransmisores, así como de alteraciones en la función inmunológica y endocrina. Todos estos sistemas se encuentran interconectados a través de una red de moléculas solubles y sus receptores específicos que en su conjunto se denominan *Interacciones Neuroendocrinoimmunológicas* (NEI), mismas que al ser desreguladas permiten el establecimiento de padecimientos como la depresión en los pacientes en los que su fondo genético así los predispone (Pavón, 2006).

Factores psicosociales como el duelo, el divorcio, la depresión y el estrés académico se acompañan de alteraciones en los parámetros de reactividad inmunológica; los factores estresantes también activan el sistema nervioso central en conjunto con el eje hipotálamo – hipófisis - adrenal y el sistema nervioso autónomo, los cuales a su vez ejercen influencia sobre el sistema inmunológico. Resumiendo, lo anterior ocurriría de la siguiente manera:

El cerebro tiene la capacidad de sintetizar y secretar una amplia variedad de citocinas y cuenta con receptores específicos para éstas, distribuidas en las diferentes regiones anatómicas del mismo (Kronfol, 2000). En presencia de un estímulo estresante ya sea físico o psicológico se elevan los niveles circulantes de las citocinas proinflamatorias, generando efectos neuroinmunológicos como la secreción in situ cerebral de IL-6 y FNT α , así como efectos neuroquímicos como el aumento en la secreción de norepinefrina, serotonina y la dopamina (DA); los efectos neuroendocrinos incluyen la liberación de hormona liberadora de corticotropina (CRH) que conduce a la activación del eje hipotálamo–hipófisis-adrenales que culmina con la liberación de cortisol y dehidroepiandrosterona (DHEA). Cuando el estímulo estresante desaparece, los glucocorticoides se encargan de regresar la actividad del sistema NEI a su estado normal. Sin embargo, si el estímulo estresante se vuelve crónico, se generan reacciones indeseables y sostenidas en el individuo debido a que se alcanzan niveles elevados de cortisol circulante y de citocinas, que a la larga llegan a afectar la función de los sistemas neuroendocrino e inmunológico, lo que a su vez propicia la desregulación de las interacciones (NEI) (Pavón L, et al, 2004).

Este conjunto de variaciones induce la aparición de efectos conductuales como incremento en el sueño, anergia, disminución en la actividad sexual y el apetito que clínicamente corresponden a manifestaciones de la depresión (Dantzer, 2008).

Con lo anterior, surge la pregunta, ¿cómo se da la comunicación entre el sistema inmunológico y el cerebro? Al respecto existen cuatro hipótesis:

- 1) Una vía incluye los nervios aferentes desde los sitios donde localmente se producen las citocinas, tales como aferentes vagales durante una infección abdominal y visceral (Dantzer, 2008).
- 2) La vía humoral, propone la existencia de receptores específicos en los órganos circumventriculares y el plexo coroideo los cuales están libres de barrera hematoencefálica, siendo así que las citocinas pueden ingresar al cerebro a través de difusión por volumen (Dantzer, 2008).
- 3) Una tercera vía que comprende transportadores de citocinas en la barrera hematoencefálica: citocinas proinflamatorias que se encuentran en circulación sistémica pueden ganar acceso al cerebro a través de sistema de transporte saturable (Dantzer, 2008).
- 4) La cuarta vía incluye los receptores para IL-1 que está localizados en los macrófagos perivasculares y células endoteliales de las venulas cerebrales. La activación de estos receptores de IL-1 por las citocinas circulantes da como resultado la producción local de prostaglandina E2 que lleva a la secreción de citocinas in situ por astrocitos y microglia (Dantzer, 2008).

La activación de estas vías neuronales probablemente sensibiliza estructuras cerebrales blanco para la producción y acción de citocinas que se propagan de los órganos circumventriculares y el plexo coroideo en el cerebro. La supresión social que caracteriza la conducta de enfermedad inducida por citocinas probablemente está mediada por las mismas áreas cerebrales que sustentan otras respuestas a la infección, tales como la reducción de alimentos o la activación del HAA. Sin embargo, a pesar de los avances en este campo, el circuito cerebral que media las diversas acciones conductuales de las citocinas permanece sin ser elucidada.

En cuanto al tema que atañe a esta investigación, en la actualidad ¿Cuál es la relación conocida entre citocinas y transportador de serotonina (5-HTT)?

Al respecto existe un considerable número de reportes acerca de la regulación de la actividad del transportador de serotonina a través de varias señales que incluyen el AMPc, el sistema de protein-quinasas C, Ca^{2+} , GMPc, calmodulina y oxidantes. (Morikawa O, 1998).

Se ha reportado también que la transcripción del transportador de serotonina está regulada por la IL- β sugiriendo que las citocinas modulan la expresión del RNAm del 5-HTT *in vitro*, sin embargo la relación directa entre citocinas y 5-HTT en pacientes con depresión mayor no está clara (Rammamorthy, 2003).

En otro estudio *in vitro* actual, los autores encontraron que las citocinas pro-inflamatorias, IL- β y FNT- α , estimulan de forma aguda la actividad del 5-HTT en células del rafe de cerebro de ratón, proponiendo de forma hipotética que las citocinas pro inflamatorias pueden alterar de forma aguda la actividad del 5-HTT en las neuronas serotoninérgicas del sistema nervioso central, y por lo tanto modular las señales serotoninérgicas e influir en el procesamiento cognitivo de las emociones. La similitud del efecto de las citocinas sobre el 5-HTT tanto en tallo cerebral como en el estriado sugiere un efecto consistente de las citocinas sobre dicho transportador en las neuronas serotoninérgicas reduciendo así las concentraciones extracelulares de 5-HT tanto en la parte terminal distal como periférica del cuerpo de las dendritas (Chong-Bin, 2006).

En humanos, el único estudio reportado hasta el momento, en el cual se analizó la expresión del RNAm de citocinas pro inflamatorias (IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF- α) y del 5-HTT en linfocitos de un grupo de pacientes con depresión vs controles sanos al inicio y final del tratamiento con un ISRS (fluoxetina), reveló que la expresión del RNAm de las citocinas pro inflamatorias mencionadas y el 5-HTT eran mayores en los pacientes deprimidos que en los controles. El incremento en el nivel de expresión del RNAm de IFN- γ y 5-HTT se modificó después del tratamiento con fluoxetina, mostrando una reducción. Además se encontró una correlación positiva entre la expresión del RNAm de 5-HTT y de las citocinas en el total de los participantes, lo cual sugiere que las citocinas pro-inflamatorias y el 5-HTT pueden jugar roles críticos en la patogénesis de la depresión mayor y que sus niveles estuvieron afectados por el tratamiento crónico con ISRS (Tsao, 2006).

Las correlaciones entre la severidad de los síntomas depresivos y otras medidas inmunológicas tales como la cuenta total de los linfocitos, porcentajes de neutrófilos, no son consistentes (Kronfol, 2002) y no se han publicado estudios que reporten la correlación entre la expresión del mensaje genético (RNAm) de las citocinas y el 5-HTT con la severidad clínica de la depresión.

CAPÍTULO 4

¿Por qué estudiar el mensaje genético de 5-HTT y citocinas pro-inflamatorias en linfocitos?

Debido a que el metabolismo y los procesos reguladores de los tejidos de sujetos con padecimientos del sistema nervioso central son difíciles de evaluar y las investigaciones bioquímicas sistemáticas con biopsias de cerebro de pacientes psiquiátricos son irreales, se han buscado métodos alternativos para la evaluación de estos parámetros.

Los métodos empleados para investigar los cambios en los niveles de citocinas difieren ampliamente entre los estudios reportados y los niveles de estos son muy difíciles de detectarlos en suero o plasma de los sujetos, por esta razón la producción de citocinas es frecuentemente examinado *ex vivo*, por ejemplo en el sobrenadante de cultivo de células sanguíneas o cultivos totales de sangre. En ambos casos, la producción de citocinas es inducida a través de la adición de lipopolisacáridos y/o mitógenos, tales como la concavalina A o fitohemaglutinina. En el primer caso, los leucocitos están purificados de la sangre para obtener una mezcla predominantemente de linfocitos y monocitos, usualmente referidos como células sanguíneas mononucleares periféricas. En el segundo caso, la sangre total del paciente es directamente cultivada sin purificar los tipos específicos de células. (Kenis G, Maes M, 2003).

Por otro lado, además de la membrana plasmática de neuronas serotoninérgicas, plaquetas y placenta se ha observado la presencia de 5-HTT en células inmunológicas humanas (linfocitos) (Faraj, 1994) mostrando muchas similitudes entre el funcionamiento del SNC y el sistema inmunológico. Blalock en 1994 demostró que un gran número de hormonas no solo son secretadas por glándulas comunes (ejm la hipófisis) también son producidas por los linfocitos. Por ejemplo, los linfocitos sintetizan ACTH, endorfinas, hormona de crecimiento, prolactina, vasopresina y somatostatina. Estas hormonas son capaces de influir en los procesos inmunológicos, por lo que se ha pensado que los linfocitos aunque de manera limitada, podrían actuar potencialmente como una sonda neural indirecta para estudiar el funcionamiento celular, incluyendo expresión de genes en los trastornos psiquiátricos.

Resumiendo, los argumentos para el estudio de padecimientos psiquiátricos y alteraciones inmunológicas a través de los linfocitos se basan en tres características:

- a) los linfocitos expresan y procesan proteínas neuroactivas, entre ellos la serotonina
- b) se ha demostrado un funcionamiento alterado de linfocitos en trastornos neuropsiquiátricos
- c) se han reportado similitudes de los efectos hormonales en el SNC y en la fisiología del linfocito (Gladkevich, et al. 2004).

En la década de los 90's se iniciaron los estudios del transportador de serotonina en los linfocitos de sangre periférica. Los linfocitos son una muestra relativamente fácil de obtener, a través de la extracción de sangre del paciente (células mononucleares en sangre periférica), pues suministran relevante información sobre marcadores periféricos de la depresión. Las propuestas más recientes (Tsao CW, 2006) vislumbran al linfocito como un marcador de estado en la depresión y la ventaja de tener un modelo de estudio óptimo para evaluar el establecimiento de los parámetros neuroendocrinoinmunológicos de la depresión mayor antes del tratamiento farmacológico y la evolución del cuadro depresivo durante la terapia depresiva es una herramienta clínica molecular que permitirá que los pacientes antes de ser dados de alta, se corrobore que los parámetros moleculares y clínicos se encuentren restaurados totalmente evitando de este modo, en lo posible recaídas tempranas del cuadro depresivo y con ello disminuir costos y aumentar la capacidad instalada de los centros de atención de salud pública.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe una correlación entre los niveles de expresión del mensaje genético de las citocinas pro-inflamatorias (INF γ) con el 5-HTT en linfocitos T de pacientes deprimidos a lo largo de 36 semanas de tratamiento con un ISRS?

JUSTIFICACIÓN

Dada las inconsistencias entre los reportes previos de las citocinas y su relación con el 5-HTT se considera indispensable iniciar líneas de investigación con parámetros más fiables como lo son la determinación del mensaje genético (RNA m), para contribuir al esclarecimiento del papel del sistema inmunológico en la generación de síntomas depresivos, así como al establecimiento de parámetros moleculares de mejoría clínica, cuyo uso aumentará la eficiencia del manejo terapéutico y farmacológico del paciente.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar si existe una correlación entre la expresión del mensaje genético de citocinas pro-inflamatorias y el 5-HTT en los linfocitos T de pacientes deprimidos a lo largo de 36 semanas de tratamiento con *ISRS*.

Objetivos Específicos

Determinar los niveles de expresión del mensaje genético de citocinas pro-inflamatorias (INF γ) y 5-HTT a través de reacción en cadena de polimerasa transcriptasa reversa (RT-PCR) en los linfocitos T de pacientes deprimidos a lo largo de 36 semanas de tratamiento con un *ISRS*.

Determinar si existe relación entre la expresión del mensaje genético (RNA m) de las citocinas pro inflamatorias y el 5-HTT con la severidad clínica de la depresión a lo largo de 36 semanas de tratamiento con un *ISRS*.

Determinar las diferencias en los niveles de expresión del mensaje genético de citocinas pro inflamatorias y el 5-HTT en los linfocitos T de pacientes deprimidos al inicio y final de 36 semanas de tratamiento con un *ISRS*.

HIPÓTESIS

Existe una correlación positiva en la expresión del mensaje genético de las citocinas pro - inflamatorias (INF γ) con el 5-HTT en linfocitos T de pacientes deprimidos tratados con ISRS a lo largo de 36 semanas de tratamiento.

Existe una correlación positiva entre la expresión del mensaje genético de las citocinas pro – inflamatorias (INF γ) y 5-HTT con la severidad de la depresión a lo largo de 36 semanas de tratamiento con ISRS.

Los niveles de expresión del mensaje genético de citocinas pro-inflamatorias (INF γ) y 5-HTT se encuentran aumentadas previo al tratamiento y disminuyen de manera paralela a lo largo de 36 semanas de tratamiento con ISRS.

TIPO DE ESTUDIO

Longitudinal, prospectivo, comparativo y homodémico.

MATERIAL Y MÉTODOS

A) Población en estudio; Selección y Tamaño de la muestra

Se evaluaron a los pacientes que acudieron por primera vez al servicio de preconsulta del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente (INPRF) durante el período de Marzo del 2005 a Septiembre del 2007 a los cuales se les otorgó diagnóstico de trastorno depresivo mayor sin otra comorbilidad.

La primera evaluación fue realizada por un residente de psiquiatría de tercer año quien realizó el diagnóstico de depresión a través de los criterios del DSM–IV TR y posteriormente aplicó la entrevista estructurada MINI versión español para corroborar el diagnóstico, así como la escala de Hamilton de Depresión y escala autoaplicable de Beck para medir la severidad de los síntomas.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

- Pacientes masculinos o femeninos entre 18 y 45 años de edad.
- Pacientes que obtuvieron una puntuación mínima de 18 en Escala de Hamilton de Depresión (HDRS).
- Pacientes con al menos tres semanas sin tomar ningún tipo de medicamentos.
- Con bajo consumo de tabaco (menor o igual a 7 cigarrillos/día); alcohol (menor o igual a 5 copas / semana) y de café o té (menor o igual a 3 tazas/día o menos).

- Sujetos que no hubieran presentado un cuadro infeccioso durante las dos semanas previas a la evaluación inicial y que no tuvieran las siguientes enfermedades: alergia, hipertensión arterial, dermatitis recurrente, así como cualquier enfermedad maligna de tipo hematológico, endocrino, pulmonar, cardiovascular, renal, hepático, gastrointestinal o neurológico que requiriera de tratamiento farmacéutico que afecte la actividad inmunológica (glucocorticoides).
- Sujetos sin riesgo suicida.
- Sujetos sin diagnóstico de depresión resistente.
- Sujetos que no hayan recibido un tratamiento con terapia electroconvulsiva (TEC) dentro de los 3 meses previos a la inclusión.
- Sujetos que no tuvieran abuso de sustancias en los últimos doce meses o dependencia a estas sustancias u otra comorbilidad psiquiátrica.
- Sujetos que hayan recibido tratamiento con fototerapia en las dos últimas semanas previas a la inclusión.
- Sujetos con trastornos neurológicos: demencia, crisis convulsivas, accidente cardiovascular o antecedentes de daño del Sistema Nervioso Central.
- Sujetos que **no** tuvieran enfermedades orgánicas graves que interfirieran con la realización del estudio.
- Todos aquellos que aceptaran firmar el consentimiento informado.

Se excluyeron del estudio:

- Mujeres embarazadas.
- Durante el seguimiento clínico se excluyeron del estudio a las mujeres que se embarazaron, así como los pacientes con intento suicida o síntomas psicóticos.

B) ESCALAS DE MEDICIÓN

Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional MINI (Mini International Neuropsychiatric Interview). Versión española traducida por: Ferrando, L. Franco-A M. Soto J. Bobes O. Soto L. Franco JG (Instituto IAP-Madrid, España). Adaptación para Centro y Sudamérica: G. Heinze (Instituto Nacional de Psiquiatría, Ramón de la Fuente, México).

Es una entrevista diagnóstica estructurada para los principales trastornos psiquiátricos del Eje I del DSM –IV y la CIE-10. Está dividida en módulos identificados por letras, cada uno corresponde a una categoría diagnóstica. Al comienzo de cada módulo (con excepción del módulo de los trastornos psicóticos) se presenta en un recuadro gris, una o varias preguntas “filtro” correspondientes a los principales criterios diagnósticos del trastorno.

Al final de cada módulo, una o varias casillas diagnósticas permiten indicar si cumplen los criterios para determinado trastorno. En 1997 se realizó un estudio de validación comparando los diagnósticos psiquiátricos generados por la Entrevista Diagnóstica Compuesta Internacional (CIDI) y por el MINI, encontrando para el trastorno depresivo mayor una kappa de 0.73, sensibilidad de 0.94, especificidad de 0.79, valor predictivo positivo de 0.82 y valor predictivo negativo de 0.93 (Lecrubier, 1997).

Escala de Depresión de Hamilton

Es un instrumento aplicado por un evaluador calificado quien realiza una entrevista clínica para cuantificar la severidad de los síntomas depresivos reflejando así los cambios a través del tiempo y la respuesta al tratamiento. Cuenta con 21 reactivos con una calificación de 1 al 4, y tiene una calificación máxima de 52 puntos. Los aspectos que se evalúan son: ánimo deprimido, sentimientos de culpa, suicidio, insomnio inicial, insomnio terminal, trabajo y actividades, retardo, agitación, ansiedad psíquica, ansiedad somática, síntomas somáticos gastrointestinales, síntomas somáticos en general, síntomas genitales, hipocondriasis, pérdida de peso, introspección, variaciones diurnas, despersonalización, síntomas paranoides, síntomas obsesivo – compulsivos. En los estudios internacionales de validación de la escala la confiabilidad prueba – re prueba reportada es de 0.82 con una consistencia interna de 0.73, la cual es considerado como aceptable⁽¹⁶⁾. En México la confiabilidad temporal analizada mediante el procedimiento de prueba – re prueba también fue satisfactoria ($r=0.72$; $p=0.001$). El valor del alfa de Cronbach para el total de las evaluaciones fue de 0.85. (Apiquián 2002).

Escala de Depresión de Beck

Es una escala autoaplicable, consta de 21 reactivos de síntomas de la depresión; cada reactivo consiste en un grupo de 4 afirmaciones, de las cuales el paciente selecciona una de ellas en relación a la forma como se ha sentido en la última semana. Estas afirmaciones reflejan la severidad del malestar de los síntomas depresivos y se califican de 0 (mínimo) a 4 (severo). La puntuación mínima y máximo de la escala es de 0 a 9, de 10 a 16 indica una depresión media; de 17 a 29 refleja una depresión moderada y de 30 a 63 indican una depresión severa (Beck y Sterr, 1993). El estudio de validez y reproducibilidad en México fue realizado por Torres-Castillo y cols en 1991, reportando una sensibilidad de 0.86 y una especificidad de 0.86. En un estudio posterior en el que se realizó estandarización del instrumento (Jurado y cols, 1998) se obtuvieron resultados similares a los reportados en la literatura internacional.

Variable	Tipo de variable	Instrumento	Medición
Niveles de expresión del RNAm de citocinas	Dimensional (continua)	Analizador de imágenes con densitometro	Densidad óptica
Niveles de expresión del RNAm de 5-HTT	Dimensional (continua)	Analizador de imágenes con densitometro	Densidad óptica
Severidad de la depresión	Nominal	Escala de Depresión de Hamilton. Escala de Depresión de Beck	Leve, Moderada o Severa

VARIABLES DEPENDIENTES: Citocinas proinflamatorias, transportador de serotonina, severidad de la depresión.

VARIABLES INDEPENDIENTES: Tratamiento con un inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina.

C) Seguimiento clínico y toma de muestras

Con cada paciente captado en la consulta externa que cumplió los criterios de inclusión, que aceptaron participar voluntariamente en el proyecto y firmaron el consentimiento informado se siguió el siguiente procedimiento:

1. Se les realizó una punción venosa para obtener 10 ml de sangre previo al inicio de tratamiento para la medición del mensaje genético así como para los estudios de biometría hemática, química sanguínea, perfil tiroideo y examen general de orina para descartar proceso inflamatorio u otra enfermedad concomitante.
2. Los pacientes deprimidos comenzaron a recibir tratamiento con un ISRS a dosis respuesta el día siguiente después de la toma de sangre. La elección del medicamento fue de acuerdo a consideración del psiquiatra que dio el seguimiento clínico.
3. El seguimiento clínico se realizó cada 15 días durante el primer mes y posteriormente cada mes durante un año.
4. La toma de muestras para la evaluación de parámetros inmunológicos fue en el día 0 (previo al inicio de tratamiento), en la semana 20, 36 y 52. (Ver esquema 1)

D) Procedimiento para análisis del mensaje genético

Purificación de monocitos y linfocitos

Se colectaron 10 ml de sangre periférica en tubos vacutainer con citrato de sodio, previamente fríos y colocados en hielo.

Se separaron las células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de la siguiente manera:

Se mezclaron 10 ml de sangre con igual cantidad de solución amortiguadora de fosfatos (PBS) o con solución salina.

Se agregaron 10 ml de Ficoll-paque en tubos cónicos de 50 ml y los 20 ml de sangre diluida.

Se centrifugó a 1600 rpm durante 30 min a 10°C

Se colectó la fase de PBMCs con pipeta Pasteur y se lavaron con PBMCs

Se centrifugó a 1600 rpm durante 15 min y a 10° C

Al paquete celular se le adicionó 10 ml de trizol

Aislamiento de Ácido Ribonucleico (ARN)

1. Separación de fases.

Se incubaron las muestras homogenizadas por 5 minutos a temperatura ambiente, se adicionaron 0.2 ml de cloroformo por cada ml de trizol, se realizó agitación fuerte por 15 segundos e incubaron por 15 min a temperatura ambiente, se centrifugaron a 12000 g como máximo por 15 min y a una temperatura de 2 a 8°C

2. Precipitación del ARN

La fase transparente superior se pasó a un tubo nuevo, se guardó la fase orgánica para purificar ácido desoxirribonucleico (ADN), se precipitó el ARN adicionando alcohol isopropílico, 0.5 ml por cada ml de trizol y se incubó las muestras a TA por 10 min, centrifugó a 12000 g como máximo por 10 min.

3. Lavado de ARN

Se desechó el sobrenadante y se lavó el ARN con 1 ml de etanol al 75% por cada ml de trizol, se mezcló en agitador y posteriormente se centrifugó a 7500 g como máximo por 5 min.

4. Redisolución del ARN.

Se desechó el sobrenadante y se secó el ARN de 5 a 10 min, se disolvió el ARN en agua libre de RNAsas mezclando la solución e incubando a una temperatura de 55 a 60°C por 10 min, se cuantificó la concentración, el rendimiento total y la pureza en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 260 y 280 nm.

5. Obtención de (cDNA) a partir de ARNm (RT)

Se utilizó 1 µg de RNA como templado para la amplificación de la cadena de cDNA utilizando un cebador de oligo dT, dNTPs y RT como enzima. Se amplificó la mezcla de reacción durante 1 hr a 42°C con un ciclo final de 96°C de 10 min. Las muestras fueron conservadas a -20°C.

6. Amplificación de 5-HTT/INFγ por PCR.

Las muestras de cDNA fueron obtenidas a partir del RNA fueron procesadas de acuerdo al diseño de los cebadores que se utilizaron, para cada reacción se utilizó un juego de cebadores dNTPS y enzima DNA pol, todas las muestras se corrieron con un programa estándar a 94°C por 5 min, (94°C por 45 seg, TM de acuerdo al cebador por 30 seg, 72°C por 1:30 seg) todo esto por 35 ciclos, como último paso se hizo una extensión de 72°C de 5 min. Las muestras se corrieron en geles de azarosa al 1% durante 1h bajo un gradiente de voltaje de 80 volts. Los productos amplificados se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron sobre un transiluminador UV.

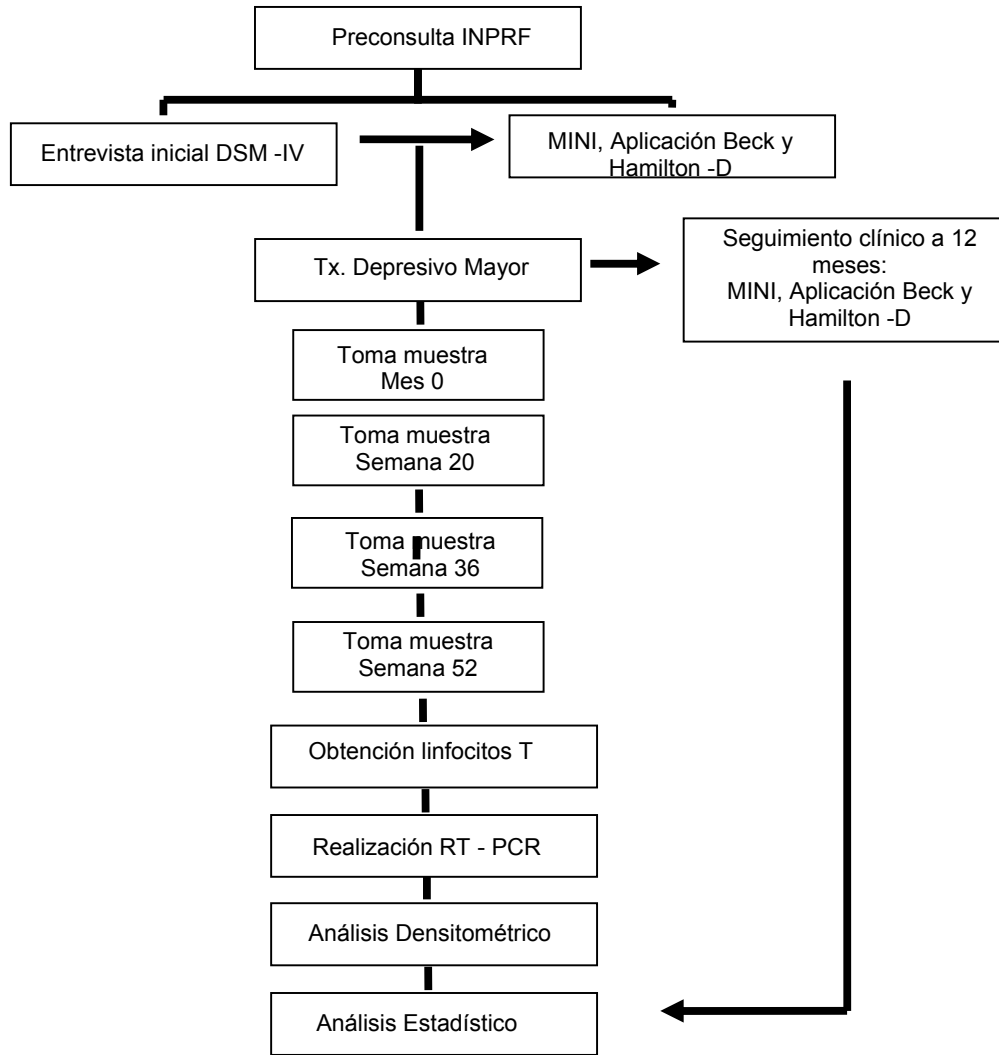
7. Amplificación de 5-HTT/INFγ por PCR-TR.

Se utilizaron sondas Taíman con diferentes fluorocromos, esto con la finalidad de poder detectar de manera duplex la expresión génica de los marcadores antes mencionados. Se tomaron como valores confiables todos aquellos que se encuentren bajo la curva óptima de detección por el equipo. Para cada reacción se utilizaron un juego de cebadores dNTPs, conda Taíman y enzima DNA pol

E) ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A los valores obtenidos se les realizó pruebas estadísticas con ayuda del programa SPSS versión 12.0. Se realizaron pruebas no paramétricas como la prueba de Wilcoxon para analizar los cambios en los niveles de expresión del mensaje genético de 5-HTT y del INFγ antes y al final del tratamiento. Se utilizó correlación de Pearson para los niveles en la expresión del mensaje genético de 5-HTT, INFγ

Esquema 1. Evaluación inicial, seguimiento clínico y toma de muestras para medir parámetros inmunológicos.



RESULTADOS

Se evaluaron 216 pacientes en el servicio de preconsulta del INPRF, de los cuales se excluyeron 167 por no cumplir los criterios de inclusión. Se asignaron a la intervención 49 pacientes, se dividieron en 4 grupos de acuerdo al fármaco que recibieron: fluoxetina (n=24), paroxetina (n=7), sertralina (n=5), citalopram (n=13). A lo largo del seguimiento se perdieron un total de 25 pacientes, de tal manera que en la semana 36 únicamente continuaban en el estudio 17 pacientes.

Para la determinación basal del mensaje genético se analizaron las muestras sanguíneas de los 17 pacientes y aunque todos ellos terminaron el seguimiento clínico no todos acudieron a la segunda y tercera toma de muestras sanguíneas, así mismo no todas las muestras recabadas fueron aptas para la realización del procedimiento de PCR, de tal manera que en la semana 20 únicamente se analizaron las muestras de 7 pacientes y en la semana 36 únicamente se analizaron las muestras de 5 pacientes, siendo estas las razones por las cuales quedó una muestra final muy pequeña en lo que respecta al análisis de inmunología. La Figura 1 muestra la ruta crítica del reclutamiento total y la pérdida de pacientes durante el seguimiento clínico.

En cuanto a las características sociodemográficas el 75% de la población de estudio fue del sexo femenino (n=37) y 25% del sexo masculino (n=12). El promedio de edad fue de 30.81 ± 8.88 . El 63.26 % (n=31) eran solteros, 30.61% (n=15) casados, y solo un 3 % (n=3) eran divorciados. El 8.16% habían cursado la primaria, el 16.32% la secundaria, el 44.8% la preparatoria, el 26.53% tenía una licenciatura y solo el 4.08% había realizado un posgrado. En cuanto a la ocupación el 30.61 % (n=15) tenían algún tipo de empleo, el 24.48 % (n=12) eran estudiantes, el 28.57% (n=14) se dedicaban al hogar, 8.16% (n=4) eran comerciantes y el 0.12% (n=3) no tenían ninguna ocupación. Se evaluaron los antecedentes heredofamiliares psiquiátricos encontrando que 30.61% de ellos (n=15) tenía algún familiar con episodio depresivo previo o actual. (Ver tabla 1) El promedio de tiempo de evolución del episodio depresivo actual fue de 6.17 ± 4.41 meses y en la mayoría de los pacientes el episodio actual era recurrente (65.30%). El promedio del puntaje basal de Hamilton-D fue de 21.15 ± 3.31 y de 29.33 ± 9.02 para la escala de Beck-D.

Figura 1. Ruta crítica del reclutamiento y seguimiento clínico de pacientes.

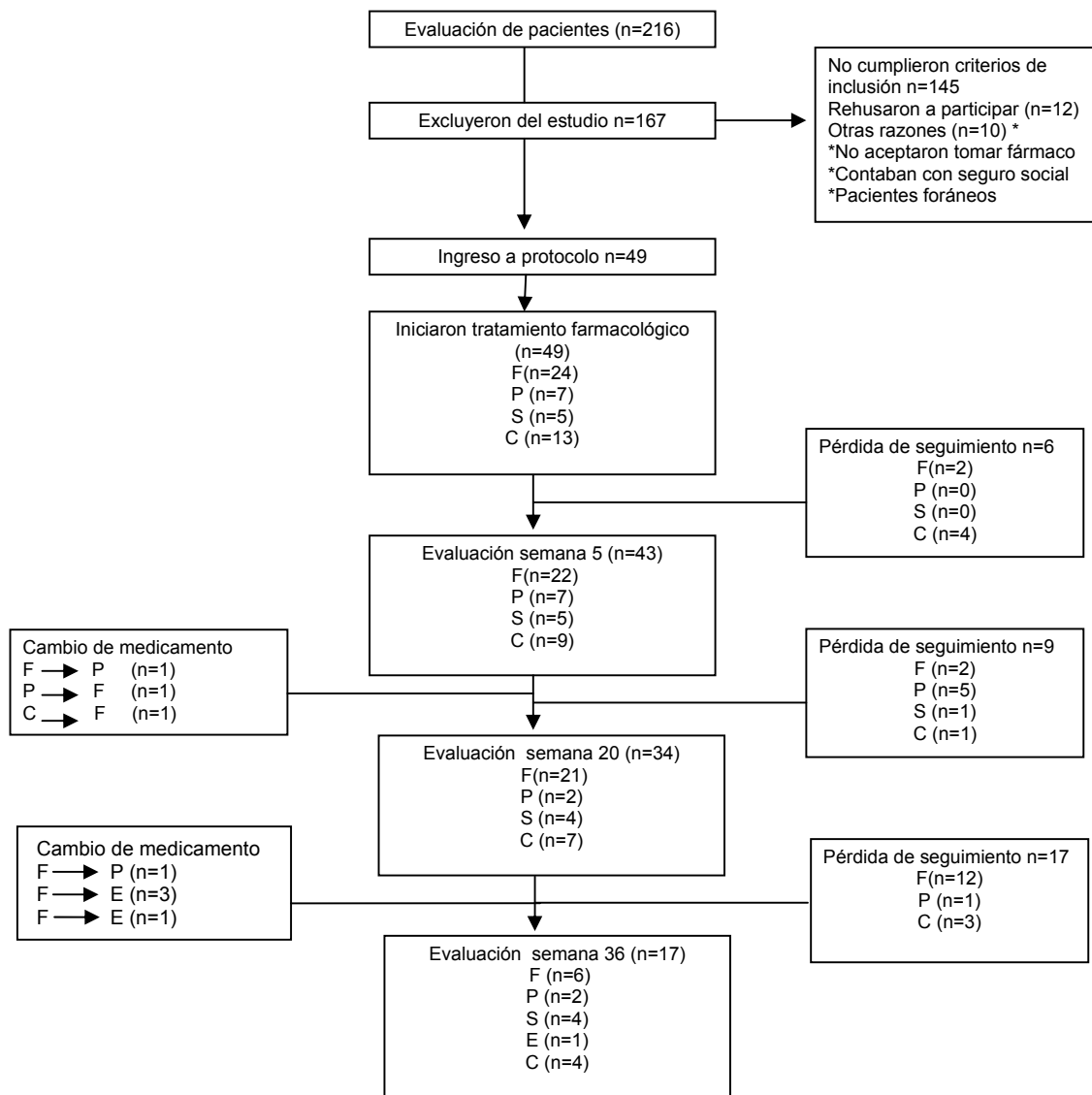


Tabla 1. **Características sociodemográficas en los pacientes con depresión mayor.**

	N	%
Género		
Masculino	12	25
Femenino	37	75
Estado Civil		
Soltero	31	63.26
Casado	15	30.61
Divorciado	3	6.12
Nivel Escolaridad		
Primaria	4	8.16
Secundaria	8	16.32
Preparatoria	22	44.8
Licenciatura	13	26.53
Posgrado	2	4.08
Ocupación		
Hogar	14	28.57
Estudiante	12	24.48
Empleado	15	30.61
Comerciante	4	8.16
Ninguno	4	8.16
AHF TDM		
Si	24	48.97
No	15	30.61
Desconoce	10	20.40

Se realizó cuantificación de mensaje genético basales a los 17 pacientes que concluyeron el seguimiento clínico durante 36 semanas, se observó una mayor expresión de INF γ en todos los pacientes previo a que recibieran tratamiento farmacológico (2879.33 \pm 1585.48). Posterior a 36 semanas de tratamiento con algún ISRS, se reanalizó la expresión del mensaje genético de 5 pacientes, encontrando una disminución en los niveles de INF γ , aunque la diferencia no fue significativa (p=0.180).

Se observó un incremento en la semana 20 de la expresión del mensaje genético del 5-HTT en comparación con la inicial, pero con una ligera reducción en la semana 36, sin ser estadísticamente significativos (p=0.71). Ver Tabla 2

Figura 2. Niveles de expresión del mensaje genético de 5-HTT, INF γ en pacientes deprimidos.

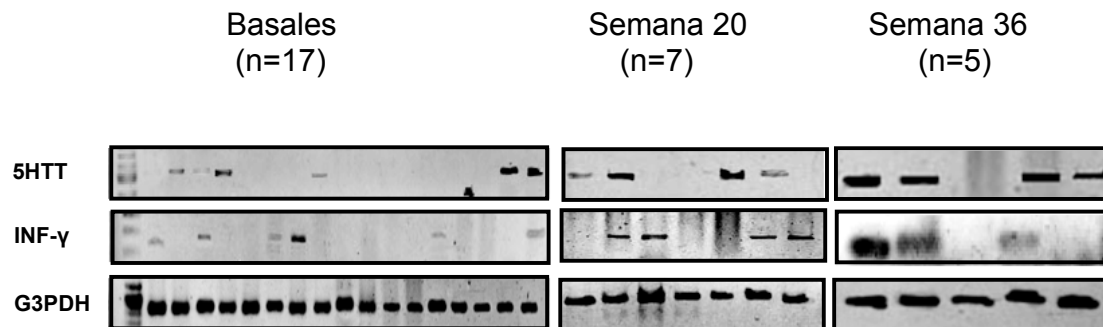


Tabla 2. Niveles de expresión del mensaje genético de 5-HTT, INF γ basales y durante el seguimiento.

	Total participantes			
	Semana 0 (n=17)	Semana 20 (n=7)	Semana 36 (n=5)	p
5-HTT	1155.82 \pm 686.143	5902.50 \pm 1268.789	1183.50 \pm 456.7	0.71
INFγ	2879.33 \pm 1585.48	2382.50 \pm 495.067	572.0 \pm 175.277	0.180

La correlación entre los niveles de expresión del mensaje genético del 5-HTT con el INF γ fueron analizados a través de una correlación de Pearson. Los resultados se muestran en la Tabla 3, el INF γ mostró una alta correlación positiva con los niveles de expresión genética del 5-HTT previo al inicio de tratamiento ($r = .97$, $p = 0.002$), el grado de correlación disminuyó en la semana 20 ($r = 0.60$, $p = \text{NS}$) y mostró una correlación negativa en la semana 36 ($r = -.59$, $p = \text{NS}$).

Tabla 3. Correlación de niveles de expresión del mensaje genético (RNAm) de INF γ con 5-HTT

	INF γ Semana 0	Semana 20	Semana 36
5-HTT			
Semana 0	.97 (.002)		
Semana 20		.69 (NS)	
Semana 36			-.59 (NS)

***Correlación de Pearson**

Se observó una baja correlación entre los niveles de expresión del mensaje genético de INF γ así como del 5-HTT con los puntajes iniciales de la Escala de Hamilton de Depresión y una correlación positiva entre el 5-HTT y los puntajes de la Escala de Beck-D previo al tratamiento con una inversión de la correlación en la semana 36, aunque esta última no fue significativa (Tabla 4.)

Tabla 4. Correlación de niveles de expresión del mensaje genético de INF γ , 5-HTT y las Escalas de Hamilton-D /Beck-D al inicio y durante 7 meses de seguimiento.

	Hamilton - D		Beck - D	
	Sem 0	Sem 36	Sem 0	Sem 36
5-HTT Sem 0	.397 (NS)		0.653 (0.015)	
5-HTT Sem 36		-0.460 (NS)		-0.460 (0.34)
INF γ Sem 0	0.327 (NS)		0.477 (NS)	
INF γ Sem 36		-0.298 (NS)		-0.298 (NS)

***Correlación de Pearson**

DISCUSIÓN

En esta investigación se ha venido planteado la hipótesis del sistema inmunológico como papel importante en la fisiopatología de la depresión mayor lo cual ha sido sustentada por estudios que demuestran una elevación de los niveles séricos de citocinas pro-inflamatorias en sujetos deprimidos; sin embargo los resultados han sido inconsistentes debido a muchos factores de confusión. En este estudio intentamos controlar dichos factores, tales como el tabaquismo, el café, consumo de alcohol o cualquier otra droga o uso de anti - inflamatorios no esteroideos, así mismo a través de estudios de laboratorio corroboramos que en el momento de toma de muestras sanguíneas los pacientes no estuvieran cursando con algún proceso inflamatorio o alguna comorbilidad médica que pudiera elevar los niveles de citocinas en sangre.

A diferencia de todos los estudios publicados, nosotros utilizamos el método de RT-PCR para determinar si las citocinas actúan como marcadores biológicos de la depresión y tener parámetros más confiables que aclaren el papel del sistema inmunológico en este padecimiento. Sin embargo la limitante principal de este estudio fue el número tan pequeño de muestras analizadas en la semana 36, lo cual no permite una generalización de resultados y no otorga resultados fiables pero si permite observar una tendencia y corrobora alguno de los planteamientos. El principal de ellos fue que la expresión del mensaje genético de INF γ se modificó con el tratamiento, mostrándose al inicio aumentado y con una disminución al final de las 36 semanas de tratamiento con un ISRS. Aunque este resultado no fue estadísticamente significativo, probablemente por la misma razón mencionada en líneas previas, ya se había reportado en estudios previos que los niveles séricos de INF γ así como de IL-6 se normalizan con la medicación antidepresiva (Frommberger et al., 1997; Tuglu et al; 2003; Sluweska et al; 1995; 1996; Song et al., 1998; Anisman and Merali, 2002) Hestad et al; 2004: Thomas, 2005), el resultado actual además de corroborar una de las hipótesis planteadas en este estudio, permite sugerir que el incremento en la expresión del mensaje genético de INF γ puede formar parte de la fisiopatogenia en lo que respecta al funcionamiento inmunológico en la depresión. Este efecto de los antidepresivos ya había sido discutido, permaneciendo en duda si es un epifenómeno o una contribución de la eficacia de los fármacos antidepresivos en la práctica clínica y requiere de mas estudios para aclarar esta duda (Capuron and Dantzer, 2003).

En cuanto a la búsqueda de asociación entre el INF γ y el 5-HTT, se observó una correlación positiva estadísticamente significativa en la semana 0 (0.97) pero con una inversión de esta correlación en la semana 36, mostrando inicialmente que a mayor expresión de INF γ , mayor expresión en los niveles séricos de 5-HTT y de manera inversa al final del seguimiento, sin embargo a diferencia de los valores iniciales este último resultado no fue estadísticamente significativo y hace falta un número mayor de comparación de muestras para evaluar si el resultado es reproducible o se modifica.

Únicamente existe un estudio previo que ha cuantificado estos mismos parámetros inmunológicos en el cual los niveles de expresión del mensaje genético de 5-HTT en 8 pacientes se redujeron posterior al tratamiento con fluoxetina pero no alcanzaron niveles similares al grupo de los controles sanos, así mismo se observó una correlación positiva entre la expresión del mensaje genético de 5-HTT e INF γ tal y como sucedió en nuestro estudio.

La relevancia de este resultado tiene que ver con que algunos estudios han demostrado que las citocinas regulan a la baja la síntesis de serotonina a través de una disminución de la disponibilidad de su precursor, por medio de la activación de la enzima que metaboliza el triptófano, la indoleamina-2,3 dioxigenasa (IDO) (Dang et al; 2000). El incremento en los niveles plasmáticos de INF γ en pacientes deprimidos se acompañó de una disminución de los niveles séricos de triptófano disponible. La depleción de triptófano ha sido asociado como desencadenante de síntomas depresivos en pacientes con hepatitis C que reciben terapia con INF γ (Maes et al; 2001) y en los pacientes con cáncer que reciben terapia con citocinas (Capuron et al; 2002). Siendo así que se ha postulado una interacción citocina-serotonina a través de la IDO. Estudios realizados *in vitro* en cultivos de 24 horas con linfocitos de sujetos sanos, han mostrado que el INF γ puede directamente regular a la alta la expresión del mensaje genético del 5-HTT e incrementar la recaptura de serotonina. Estos resultados probablemente inclinen a un mecanismo que indica que tanto el 5-HTT como las citocinas pueden estar implicadas en la depresión y coincidir con la hipótesis que las citocinas pueden acelerar la síntesis de 5-HTT, lo cual llevaría a una mayor recaptura de serotonina en las neuronas, regulando a la baja los niveles de serotonina y contribuir a la aparición de depresión.

En el presente estudio además de corroborar una correlación positiva entre INF γ y 5-HTT, así como una disminución de la citocina proinflamatoria después de 36 semanas de tratamiento, se observó que las modificaciones en estos parámetros se acompañan de una mejoría clínica medidos a través de las escalas de Beck y Hamilton, lo cual estaría a favor de la hipótesis arriba planteada aún cuando no se encontró una correlación estadísticamente significativa entre estos dos parámetros.

CONCLUSIONES

El trastorno depresivo mayor tradicionalmente se ha visto como un trastorno producido por cambios en los neurotransmisores monoaminérgicos en el sistema nervioso central que a su vez originan cambios endocrinos, inmunológicos y conductuales. Se ha sugerido que estos cambios pueden ser secundarios a alteraciones en el funcionamiento inmunológico, al menos en algunos casos de depresión. En este estudio se observó que la correlación entre los niveles del mensajero genético del INF γ y el 5-HTT previo al tratamiento pueden representar un mecanismo modulador entre la comunicación de la respuesta inmunológica con el sistema nervioso central en la patogénesis de la depresión. Así mismo la disminución del INF γ posterior al tratamiento puede representar un parámetro de mejoría clínica.

LIMITACIONES

Se considera que la principal limitación del estudio es el número tan pequeño de muestras sanguíneas a las que se les realizó procedimiento de RT-PCR al final del seguimiento lo cual limitó las pruebas estadísticas y la generalización de resultados.

BIBLIOGRAFIA

- Anisman and Merali Z.** Cytokines, stress, and depressive illness. *Brain Behav Immun* 2002;16:513-24.
- Arango V, Ernsberger P, Marzuk PM, et al.** Autoradiographic demonstration of increased serotonin 5-HT₂ and beta-adrenergic receptor binding sites in the brain of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* 1990;47:1038-47
- Arango V, Underwood M, Mann J.** Alterations in monoamine receptors in the brain of suicide victims. *J Clin Psychopharmacol* 1992; 12:8S-12S.
- Arora RC, Meltzer HY.** Serotonergic measures in the brains of suicide victims: 5-HT₂ binding sites in the frontal cortex of suicide victims: 5-HT₂ binding sites in the frontal cortex of suicide victims and control subjects. *Am J Psychiatry* 1989;146:730-6
- Bagby RM, Ryder AG, Schuller DR, Marshall MB.** The Hamilton Depression Rating Scale: has the gold standard become a lead weight?. *Am J Psychiatry*, 161(12):2163-77, 2004. Review.
- Bunney WE Jr, Davis JM.** Norepinephrine in depressive reactions: a review. *Arch Gen Psychiatry*. 1965;13:483. 1997;386:493-495.
- Capuron L, Dantzer R.** Cytokines and depression: the need for a new paradigm. *Brain Behav Immun* 2003;17(Suppl. 1):S119-24
- Capuron L, Ravaut A, Neveu P, Miller AH, Maes M, Dantzer R.** Association between decreased serum tryptophan concentrations and depressive symptoms in cancer patients undergoing cytokine therapy. *Mol Psychiatry* 2002;7:468-73.
- Caraveo AJ, Colmenares BE, Salduva HG:** Morbilidad psiquiátrica en la ciudad de México: Prevalencia y comorbilidad durante la vida. *Salud Mental*, 22 (Número Especial): 62-67, 1999.
- Chong-Bin Z, Blakely RD, Hewlett W.** The Proinflammatory Cytokines interleukin-1 beta and Tumor Necrosis Factor –Alpha activate serotonin transporters. *Neuropsychopharmacology*, 2006;31:2121-2131.
- Dang Y, Dale WE, Brown OR.** Comparative effects of oxygen on indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophan 2,3-dioxygenase of the kynurenine pathway. *Free Radic Biol Med* 2000;28:615-24.
- Dantzer R, O'Connor J, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW.** From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature* 2008, 9:46-57.
- Dantzer R.** Cytokine – induce sickness behavior: where do we stand? *Brain Behav Immun*. 2001, 15: 7-24
- Delgado PL, Miller HL, Salomón RM, et al.** Tryptophan-depletion challenge in depressed patients treated with desipramine or fluoxetine: implications for the role of serotonin in the mechanism of antidepressant action. *Biol Psychiatry*, 1999;46:212-220.
- Faraj BA, Olkowski ZL, Jackson RT.** Expression of a high –affinity serotonin transporter in human lymphocytes. *Int J Immunopharmacol* 1994;16:561-7.
- Frommberger UH, Bauer J, Haselbauer P, Fraulin A, Riemann D, Berger M.** Interleukin-6 plasma levels in depression and schizophrenia: comparison between the acute state and after remission. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1997;247:228-33.
- Gladkevich A, Kauffman HF, Korf J.** Lymphocytes as a neural probe: *Prog in Neuropsychopharmacol & Biol Psychiatry*. 2004;28:559-576.

- Goodwin FK, Bunney WE.** Depressions following reserpine: a re-evaluation. *Semin Psychiatry*. 1971;3:435-448.
- Grundy CT, Lunnan KM, Lambert MJ, Ashton JE and Tovey DR.** The Hamilton rating scale for depression: one scale or many?. *Clinical psychology:science and practice*.1994, 1:197-205.
- Hall RC, Wise MG:** The clinical and financial burden of mood disorders: cost and outcome. *Psychosomatics*. 1995; 36:S11-S18.
- Hestad KA, Tonseth S, Stoen CD, Ueland T, Aukrust P.** Raised plasma levels of tumor necrosis factor alpha in patients with depression: normalization during electroconvulsive therapy. *J ECT* 2003;19:183-8.
- Holbsoer F, Barden N.** Antidepressants and hypothalamic – pituitary – adrenocortical regulation. *Endocr Rev*, 1996; 17:187-205
- Hrdina PD, Vu TB.** Chronic fluoxetine treatment upregulates 5-HT uptake sites and 5-HT₂ receptors in rat brain: an autoradiographic study. *Synapse* 1993; 14:324-31
- Irwin M.** Depresión and Immunity. En: Ader R, Felten DL, Cohen N, (eds) *Psychoneuroimmunology*. Academic Press. 2001:383-397.
- Kaplan- S.** Trastornos del estado de ánimo. En Edmonton JC, Gabbard OG, Grebb AJ, Manley M, Pataki SC, Sussman N. (eds). *Sinopsis de psiquiatría*. Waverly Hispánica, 2003:534-535.
- Kenis G, Maes M.** Effects of antidepressants on the production of cytokines. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2002;5:401-412.
- Kronfol Z, Remick DG:** Cytokines and the brain: implications for clinical psychiatry. *Am J Psychiatry*, 2000. 157(5): 683-94
- Kronfol Z.** Immune dysregulation in major depression: a critical review of existing evidence. *Int J Neuropsychopharmacol* 2002;5:333-34.
- Lecrubier Y, Sheehan F, Weiller E, Amorim P, Bonora LI, Sheehan K, Janavas J, Dunbar G.** The MINI International Neuropsychiatric Interview (MINI). A short diagnostic Structured Interview: Reliability and Validity According to the CIDI. *European Psychiatry* 1997; 12:224-231
- Maes M, Bonaccorso S, Marino V, Puzella A, Pasquini M, Biondi M, et al.** Treatment with interferon- α (INF- α) of hepatitis C patients induces lower serum dipeptidyl peptidase IV activity, which is related to INF α -induced depressive and anxiety symptoms and immune activation. *Mol Psychiat* 2001;6:475-80.
- Mann JJ, Stanley M, McBride PA,** et al. Increased serotonin₂ and beta-adrenergic receptor binding in the frontal cortices of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* 1986;43:954-9
- Mathew TA, Fedele DE, Unger EI,** et al. Effects of serotonin transporter inactivation on extracellular 5-HT levels, in vivo microdialysis recovery and MDMA-induced release of serotonin and dopamine in mouse striatum. *Soc Neurosci Abstr* 2000;30:624
- Medina-Mora MA, Borges G, Lara MC, Benjet C, Blanco JJ, Bautista CF,** et al: Prevalencia de trastornos mentales y uso de servicios: resultados de la encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México. *Salud Mental*, 26(4):1-16, 2003.
- Meyer JH.** Imaging the serotonin transporter during major depressive disorder and antidepressant treatment. *Psychiatry Neurosci* 2007;32(2):86-102. Review

- Morikawa O, Sakai N, Obara H, Saito N.** Effects of interferon alfa, interferon – gama and cAMP on the transcriptional regulation of the serotonin transporter. *Eur J Pharmacol* 1998;349:317-24.
- Nemeroff CB.** The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: New findings and new directions. *Mol psychiatry* 1996; 1:336-342
- O'Regan D, Kwork RP, Yu PH, et al.** A Behavioural and neurochemical analysis of chronic and selective monoamine oxidase inhibition. *Psychopharmacology* 1987;92:42-7
- Owens MJ, Morgan WN, Plott SJ, et al.** Neurotransmitter receptor and transporter binding profile of antidepressants and their metabolites. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;283:1305-22
- Pariante C M, Miller AH.** Glucocorticoid Receptors in Major depression: relevance to pathophysiology and treatment. *Society of Biological Psychiatry* 2001; 49: 391-404.
- Pavón L, Sandoval G, Hernández M, Loría F, Estrada I, et al.** Th2 cytokine response in Major Depressive Disorder patients before treatment. *Journal of Neuroimmunology* 2006, 172:156-165.
- Pavón L, Hernández MA, Loria F, Sandoval G.** Interacciones neuroendocrino-inmunológicas. *Salud Mental* 2004;27(3): 19-25.
- Pavón L.** Sistema neuroinmunoendocrino. En Rojas Espinoza. *Inmunología (de memoria)*. Editorial Panamericana, 2006:475-488.
- Potter W, Grossman G, Rudorfer M.** Noradrenergic function in depressive disorders. In: Mann J, Kupfer D, eds. *Biology of Depressive Disorders. Part A: A Systems Perspective*. New York, NY: Plenum Press; 1993:1-27.
- Potter W, Muscettola G, Goodwin F.** Sources of variance in clinical studies in MHPG. In: Maas J, ed. *MHPG: Basic Mechanisms and Psychopathology*. New York, NY: Academic Press; 1983:145-165.
- Practice guideline for treatment of patients with major depressive disorder** (revision). American Psychiatric Association. *Am J psychiatry* 2000;157(2 Suppl):1-45
- Purselle DC, Nemeroff CB.** Serotonin transporter: a potential substrate in the biology of suicide. *Neuropsychopharmacology* 2003;28:613-9
- Ressler KJ, Nemeroff CB.** Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Biol Psychiatry*. 1999;46:1219-1233.
- Roth BL, Mc Lean S, Zhu XZ, et al.** Characterization of two [3H]hetanserin recognition sites in rat striatum. *J Neurochem* 1987;49:1833-8
- Rush J, Keller M, Bauers MS.** Trastornos del estado de ánimo. En Frances A, Pincus AH, First M. *Manual diagnóstico y estadístico de trastornos mentales*. Masson, 1995:325-333.
- Slone LB, Norris FH, Murphy AD, Perilla J, et al.** Epidemiology of major depression in four cities in Mexico. *Depress Anxiety* 2006;23(3):158-67.
- Song C, Lin A, Bonaccorso S, Heide C, Verkerk R, Kenis G, et al.** The inflammatory response system and the availability of plasma tryptophan in patients with primary sleep disorders and major depression. *J affect Disor* 1998;49:211-9
- Stahl MS.** Classical Antidepressants, serotonin Selective reuptake inhibitors, and noradrenergic reuptake inhibitor. En: Stahl SM. *Essential Psychopharmacology*. 2002: 199-244.
- Stanley M, Mann JJ.** Increased serotonin-2 binding sites in frontal cortex of suicide victims. *Lancet* 1983;1:214-6.M,

- Stockmeier CA, Kellar KJ.** In vivo regulation of the serotonin-2-receptor in rat brain. *Life Sci* 1986;38:117-27
- Sluzewska A, Rybakowski JK, Laciak M, Mackiewicz A, Sobieska M, Wiktorowicz.** Interleukin-6 serum levels in depressed patients before and after treatment with fluoxetine. *Ann N Y Acad Sci* 1995;762:474-6
- Tatsumi M, Groshan K, Blakely RD, et al.** Pharmacological profile of antidepressants and related compounds at human monoamine transporter. *Eur J Pharmacol* 1997;340:249-58
- Thomas AJ, David S, Morris C, Jackson E, Harrison R, O'Brien JT.** Increase in interleukin-1 beta in late-life depression. *Acta Psychiatrica Scand* 1994 (Suppl.377): S11-5
- Todd KG, Mc Manus DJ, Baker GB.** Chronic administration of the antidepressants phenelzine, desipramine, clomipramine, or maprotiline decreases binding to 5-hydroxytryptamine 2A receptors without affecting benzodiazepine binding sites in rat brain. *Cel Mol Neurobiol* 1995;15:361-70
- Tsao CW, Lin YS, Chen CC, Bai CH, Wu SR.** Cytokines and serotonin transporter in patients with major depression. *Prog in Neuropsychopharmacol & Biol Psychiatry* 2006;30: 899-905°.
- Tuglu C, Kara SH, Caliyurt O, Vardar E, Abay E.** Increased serum tumor necrosis factor-alpha levels and treatment response in major depressive disorder. *Psychopharmacology* 2003;170:429-33
- Wells KB, Stewart A, Hays RD:** The functioning and well – being of depressed patients. *JAMA* 1989; 262: 914-919.
- Wichers M, Maes M.** The psychoneuroimmuno – pathophysiology of cytokine – induced depression in humans. 2002, 5:375-388.
- Yates M, Leake A, Candy JM, et al.** 5HT2 receptor changes in major depression. *Biol Psychiatry.* 1990; 27:489-96

ANEXOS

ORGANIZACIÓN:

El proyecto se llevó a cabo en:

- Laboratorio de Psicoimmunología del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”. Dr. Lenin Pavón Romero.
- Laboratorio Clínico del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”. Dra. Julia Moreno Aguilar.
- Servicio de preconsulta del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”: Dra. Danelia Mendieta Cabrera.
- Consulta externa del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz”, donde tres médicos residentes de psiquiatría dieron el seguimiento clínico, con la consecuente aplicación de escalas.

Evaluación de costos

Los costos del proyecto derivaron parcialmente del fondo del proyecto CONACYT-SALUD 2003-C01-14 y del ICYTDF 08.