



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ

Estudio de asociación entre variantes del gen BDNF (factor neurotrófico derivado de cerebro) y el Trastorno Obsesivo-Compulsivo en población mexicana

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN PSIQUIATRÍA QUE PRESENTA:

GUADALUPE LIDIA MÁRQUEZ MÁRQUEZ

Tutor teórico:

Tutor metodológico:

Dra. Cristina Lóyzaga Mendoza

M. en C. Beatriz Camarena Medellin

México, D.F.

Abril de 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

"...en todo caso, había un solo túnel, oscuro y solitario: el mío, el túnel en que había transcurrido mi infancia, mi juventud, toda mi vida."

Ernesto Sábato

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres y hermanos, quienes me han enseñado tantas cosas, me han apoyado, entendido y me han dejado ser quien soy.

A la UNAM que me recibió desde muy joven y me ha brindado la oportunidad de recibir una educación excepcional. Al INPRFM por haber hecho de mi sueño una realidad.

A la Dra. Lóyzaga y a la Comunidad TOC, a Betty Camarena, Sandra y Male que me han dado un lugar en el Instituto donde encuentro más que a maestros y compañeros de trabajo. Gracias a todos ustedes fue posible conjuntar en un solo trabajo las dos cosas que más disfruto de la psiquiatría; sin su ayuda este trabajo no habría sido posible.

A mi familia putativa de la facultad: Danny, Sergio, Roxana, Julio, Salvador, Eduardo, Rebeca, quienes han sido una familia para mí y me han acompañado en los mejores momentos, así como en los difíciles, siempre conmigo cuando los he necesitado. A Dulce, Ceci, Joana, Maribel y Laura que me han acompañado en estos años de estudio, trabajo y diversión.

A los miembros del H.H. Pasillo: Deyanira, Cristian, Aidé, Irma, Elizabeth, David y Alberto que han sido parte fundamental de mi pasado y que a pesar de los años se han mantenido en mi presente y espero tenerlos en mi futuro. Especialmente a ti que estás, que siempre estás y que siempre quiero que estés, con quien no he necesitado señales diarias para encontrarnos y sentirnos encontrados, gracias por cada palabra y cada momento; sin ti este camino habría sido infinitamente más difícil.

A Débora por haber vuelto de forma inesperada y por haberme enseñado que nunca hay que darse por vencidos, por lo que puedo estar segura que algún día leeré tu propia tesis.

A David, Brisa, Jasso, Alejandra (Bush), Mauricio, Jeremy y Dr. Muñoz por haberme demostrado que al Instituto no sólo se va a trabajar.

Finalmente a nuestros pacientes, sin quienes este trabajo no sólo no sería posible, sino que carecería de sentido.

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	v
RESUMEN	vii
PARTE I	
ANTECEDENTES	1
GENERALIDADES DEL TRASTORNO OBSESIVO-COMPULSIVO	1
GENÉTICA DEL TRASTORNO OBSESIVO-COMPULSIVO	17
FACTOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DE CEREBRO	19
EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA	22
JUSTIFICACIÓN	24
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	27
OBJETIVOS	27
OBJETIVO GENERAL	27
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
HIPÓTESIS	29
PARTE II	
MATERIALES Y MÉTODOS	30
DISEÑO DEL ESTUDIO	30
POBLACIÓN EN ESTUDIO	30
VARIABLES	32
MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	32

ANÁLISIS GENÉTICO	33
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	36
IMPLICACIONES ÉTICAS	37
PARTE III	
RESULTADOS	38
CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA MUESTRA	38
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA MUESTRA	39
ANÁLISIS GENÉTICO	43
PARTE IV	
DISCUSIÓN	56
CONCLUSIONES	64
REFERENCIAS	66

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla I. Análisis factorial de síntomas obsesivo-compulsivos	8
Tabla II. Frecuencia de genotipos de rs6265, rs1519480 y rs7124442 en población de origen mexicano	22
Tabla III. Estudios de asociación basados en familias de variantes de BDNF en el TOC	26
Tabla IV. Estudios de casos y controles de asociación de variantes de BDNF en el TOC	28
Tabla V. Descripción de los polimorfismos del gen BDNF analizados en el estudio	36
Tabla VI. Características demográficas de 143 Pacientes con TOC y 283 Controles	38
Tabla VII. Características clínicas de 143 Pacientes con TOC	40
Tabla VIII. Comorbilidad en pacientes con TOC	41
Tabla IX. Frecuencias de genotipos y alelos por género del rs6265 del gen BDNF en pacientes TOC y controles	46
Tabla X. Frecuencias de genotipos de portadores Met y no portadores Met en casos y controles por género	46
Tabla XI. Frecuencias de genotipos y alelos por género del rs1519480 del gen BDNF en pacientes TOC y controles	47
Tabla XII. Frecuencias de genotipos y alelos por género del rs7124442 del gen BDNF en pacientes TOC y controles	48
Tabla XIII. Genotipos de las tres regiones analizadas en pacientes con edad de inicio temprana y edad de inicio tardía	49
Tabla XIV. Frecuencias de genotipos y alelos de las regiones analizadas por género y subtipo de síntomas	50
Tabla XV. Análisis por ANOVA entre la portación de alelos y puntuación total en YBOCS por región y género	51
Tabla XVI. Análisis por ANOVA entre la portación de alelos y puntuación en subescala de obsesiones de YBOCS por región y género	52
Tabla XVII. Análisis por ANOVA entre la portación de alelos y puntuación en subescala de compulsiones de YBOCS por región y género	52
Tabla XVIII. Análisis por haplotipos de las variantes del gen BDNF en pacientes con TOC y sujetos controles utilizando el programa THESIAS	53
Tabla XIX. Análisis de variables clínicas por haplotipos en pacientes con TOC	54
Tabla XX. Análisis por FBAT de la transmisión alélica de las 109 familias con TOC	55

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1.	Gen BDNF	21
Figura 2.	Localización de las regiones rs6265, rs1519480 y rs7124442 en el gen BDNF, localizado en el cromosoma 11	34
Figura 3.	Condiciones de la reacción de PCR en tiempo real, 7500 System SDS Software versión 1.3.1 para la genotipificación de rs6265 y rs1519480	35
Figura 4.	Condiciones de la reacción de PCR en tiempo real, 7500 System SDS Software versión 1.3.1 para la genotipificación de rs7124442	35
Figura 5.	Distribución de la muestra por edad de inicio de los síntomas obsesivo-compulsivos	39
Figura 6.	Distribución de comorbilidad por número de diagnósticos y por género.	41
Figura 7.	Distribución de síntomas obsesivo-compulsivos en muestra total de pacientes con TOC.	42
Figura 8.	Distribución de síntomas obsesivo-compulsivos en la muestra total y por género.	43
Figura 9.	Discriminación alélica por PCR en tiempo real de la región rs6265 del gen BDNF.	44
Figura 10.	Discriminación alélica por PCR en tiempo real de la región rs1519480 del gen BDNF	44
Figura 11.	Discriminación alélica por PCR en tiempo real de la región rs7124442 del gen BDNF	45

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

χ^2	Chi cuadrada
5HT	Serotonina
A	Adenina
BDNF	Factor de crecimiento derivado de cerebro (por sus siglas en inglés)
C	Citocina
CFM	Corteza fronto-medial
DE	Desviación estándar
DNA	Ácido desoxirribonucleico (por sus siglas en inglés)
FBAT	Prueba de asociación basada en familias (por sus siglas en inglés)
G	Guanina
ISRS	Inhibidores selectivos de recaptura de la serotonina
mCPP	Metaclorofenilpiperazina
NMDA	N-metil D-aspartato
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR-RT	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (por sus siglas en inglés)
RNA	Ácido ribonucleico (por sus siglas en inglés)
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
SPECT	Tomografía computarizada por emisión de un solo fotón (por sus siglas en inglés)
T	Timina
TDT	Prueba de desequilibrio de transmisión (por sus siglas en inglés)
TEOC	Trastornos del espectro obsesivo-compulsivo
THESIAS	Prueba de efectos de haplotipos en estudios de asociación (por sus siglas en inglés)

TOC	Trastorno obsesivo-compulsivo
Y-BOCS	Escala de gravedad de síntomas obsesivo-compulsivos de Yale-Brown (por sus siglas en inglés)
Y-BOCS-C	Puntuación en la subescala de compulsiones de la Escala de gravedad de síntomas obsesivo-compulsivos de Yale-Brown
Y-BOCS-O	Puntuación en la subescala de obsesiones de la Escala de gravedad de síntomas obsesivo-compulsivos de Yale-Brown
Y-BOCS-T	Puntuación total en la Escala de gravedad de síntomas obsesivo-compulsivos de Yale-Brown

RESUMEN

El Trastorno Obsesivo-Compulsivo (TOC) es un trastorno psiquiátrico cuya etiología aún no se conoce, aunque resulta claro que factores genéticos juegan un papel importante. En 2003, se describió una asociación entre el factor de crecimiento derivado de cerebro (BDNF, por sus siglas en inglés) y el TOC en un estudio de asociación basado en familias, pero estos resultados no se han replicado hasta la fecha, mas algunos hallazgos apoyan la teoría de que el BDNF puede estar implicado en la etiología molecular del TOC.

En este estudio, investigamos el rol que tres variantes del gen BDNF (rs6265, rs1519480 y rs7124442) por sí mismas y como haplotipos podrían jugar en la etiología del TOC en una muestra de población mexicana con un diseño de casos y controles y un estudio basado en familias.

Las tres variantes polimórficas distribuidas en el gen BDNF fueron genotipificadas en un grupo control (n = 283), un grupo de sujetos con TOC (n = 260) y familiares de primer grado de 109 pacientes con TOC (n = 185). Todas las muestras fueron genotipificadas utilizando el método de discriminación alélica para polimorfismos de un solo nucleótido con ensayos TaqMan. Se realizó análisis de un solo *locus* y por haplotipos para determinar si había alguna diferencia significativa en la distribución de las variantes genéticas entre el grupo control y el grupo de pacientes con TOC, y si algún alelo específico fue sobretransmitido en las familias TOC. Finalmente, la información clínica (edad de inicio, puntuación en Escala de Yale-Brown de gravedad de síntomas obsesivo-compulsivos y lista de verificación, historia familiar de trastornos psiquiátricos y comorbilidad) fue registrada para 143 pacientes con TOC, para quienes se realizó un análisis estadístico con la finalidad de investigar si alguna variante genética está asociada con un fenotipo específico de TOC.

El diagnóstico de TOC y la evaluación clínica fue realizada por psiquiatras expertos en TOC y los Trastornos del Espectro.

El análisis de polimorfismos de un solo nucleótido en el estudio de casos y controles mostró una asociación estadísticamente significativa entre la región rs6265 y el TOC. En particular, observamos una alta frecuencia del genotipo Val/Val y el alelo Val en pacientes con TOC en comparación con el grupo control ($\chi^2=26.6$, $p=0.0000$ $\chi^2=28.5$, $p=0.0000$, respectivamente). Asimismo, el análisis de la región rs1519480 mostró una alta frecuencia del alelo G en pacientes con TOC comparado con el grupo control ($\chi^2=25.8$, $p=0.0000$). No hubo asociación estadísticamente significativa entre la región rs7124442 y el TOC.

El análisis por haplotipos mostró que el haplotipo A-A-T (rs6265-rs1519480-rs7124442) se encuentra estadísticamente con mayor frecuencia en el grupo con TOC que en el grupo control ($p=0.0041$), asociándose a un riesgo 2.8 veces mayor de presentar TOC. También se identificó una baja frecuencia del haplotipo A-G-T en el grupo de pacientes con TOC ($p=0.0024$).

Al realizar el análisis de la edad de inicio, dimensiones de síntomas, gravedad de los síntomas y género por haplotipos y para un solo *locus* no se encontró asociación significativa, excepto para un mayor riesgo de la dimensión de síntomas de contaminación/limpieza en los hombres portadores del alelo Val de la región rs6265 ($p=0.0096$). Finalmente, el estudio de asociación basado en familias no mostró diferencias significativas en la transmisión de ninguna variante.

En conclusión, en este estudio se replicó la asociación entre el alelo Val de la región rs6265 del gen BDNF y el TOC. Encontramos una asociación significativa del rs1519480 en pacientes con TOC comparado con el grupo control. Finalmente, identificamos un haplotipo de riesgo (A-A-T) en pacientes con TOC y un haplotipo de protección (A-G-T). Resulta interesante que el riesgo de desarrollar TOC podría ser dependiente de la portación de la variante A en la región rs1519480, región que nunca antes ha sido analizada en el TOC. Por lo tanto, nuestros hallazgos sugieren que el gen BDNF podría estar relacionado con el desarrollo de TOC.

PARTE I

ANTECEDENTES

GENERALIDADES DEL TRASTORNO OBSESIVO-COMPULSIVO

El Trastorno Obsesivo-Compulsivo (TOC) se caracteriza por la presencia de pensamientos, impulsos o imágenes intrusivos, repetitivos, egodistónicos y ansiogénicos (obsesiones), y conductas o actos mentales repetitivos y ritualizados que el individuo realiza con el objetivo de prevenir aquello que se teme o reducir el malestar que las obsesiones generan ;sin embargo éstas resultan claramente excesivas o no están conectados de forma realista con aquello que pretenden neutralizar o prevenir.¹ Estos síntomas deben generar malestar clínicamente significativo por la pérdida de tiempo que representan o interferir marcadamente con las actividades del individuo.

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Durante la edad media y hasta bien entrado el siglo XIX, se consideraba que los individuos con pensamientos obsesivos blasfemos o de contenido sexual estaban poseídos por el diablo, siendo el tratamiento de elección el exorcismo, para lo cual se torturaba al sujeto con la finalidad de expulsar a la entidad intrusiva. Posteriormente, la explicación de las obsesiones y compulsiones pasó de lo religioso a la medicina. El TOC aparece por primera vez descrito en la literatura psiquiátrica por Esquirol en 1838 y para finales del siglo XIX, era interpretado como una manifestación de la melancolía o la depresión.

A inicios del siglo XX, Freud utilizó el término de neurosis obsesivo-compulsiva para referirse a la presencia de síntomas obsesivo-compulsivos y con esto su estudio pasa erróneamente solo al campo de la psicología. Otro autor importante del siglo XX, Pierre Janet, describe los síntomas

obsesivos y utiliza con relativo éxito para las compulsiones algunas técnicas conductuales, aunque son los conceptos de Freud los que prevalecen hasta mediados del siglo XX, él conceptualiza los síntomas obsesivo-compulsivos como resultado de conflictos inconscientes. De esta forma deja de tratarse a los síntomas para tratar los conflictos inconscientes.

A mediados del siglo pasado, comienzan a surgir técnicas cognitivo-conductuales que incluyen las de exposición al estímulo y prevención de la respuesta como tratamiento de las compulsiones y éste es actualmente un elemento esencial para el tratamiento del TOC junto con el tratamiento farmacológico.²

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Fenomenológicamente, los sujetos afectados por el TOC muestran una amplia variedad con respecto al tipo y gravedad de los síntomas, edad de inicio y comorbilidades, dando origen a una entidad nosológica con una gran heterogeneidad.

En lo que respecta a la edad de inicio, se ha descrito que la edad promedio de inicio del TOC se da entre los 20 y 24 años, encontrándose que más del 80% de los casos iniciaron antes de haber cumplido los 35 años de edad.²

Buscando homogeneizar el trastorno con fines de investigación clínica y básica, se ha intentado dividir a los pacientes con TOC de acuerdo a la edad de inicio de los síntomas, de esta forma, se le ha considerado el grupo de inicio en la infancia, que incluye a los pacientes con inicio de los síntomas previo a la pubertad, el cual cuenta asimismo con dos picos de edad (a los seis y a los diez años).

Otros autores han clasificado a los pacientes de acuerdo a una edad de inicio temprana y edad de inicio tardío, mas aún hay controversia en cuanto al punto de corte para definir a qué grupo pertenece cada paciente.

Delorme R *et al*³ encontraron una distribución bimodal en una muestra de 161 pacientes con diagnóstico confirmado de TOC, encontrándose el punto de corte a las 21 años de edad, de tal forma que los sujetos que tuvieron inicio de la sintomatología obsesivo-compulsiva antes de cumplir los 21 años de edad, fueron con mayor frecuencia hombres, presentaban más frecuentemente comorbilidad con el Síndrome de Gilles de la Tourette y mayor agregación familiar de TOC, mientras que quienes habían iniciado los síntomas a partir de los 21 años, presentaban mayor comorbilidad con trastorno de ansiedad generalizada y depresión. Como conclusión los autores consideraron que el TOC realmente podía clasificarse de acuerdo a la edad de inicio, así el inicio temprano fue antes de los 21 años y el inicio tardío (que corresponde al promedio) a partir de los 21 años. Otros autores han propuesto diferentes puntos de corte para considerar el inicio de la sintomatología como temprano entre los 15 y 17 años.^{4,5}

Algunos pacientes describen el inicio de los síntomas posterior a un evento estresante, como el embarazo, muerte de un familiar, enfermedad, etc., siendo en muchos casos el inicio súbito, obstante, el único estresor que ha resultado estadísticamente significativo como desencadenante del TOC es el embarazo.

En estudios recientes se ha encontrado que a pesar de la grave disfunción que puede llegar a generar los síntomas, entre el inicio de los mismos y la búsqueda de atención psiquiátrica pueden pasar varios años. En la Encuesta de Morbilidad Psiquiátrica Británica de 2000⁶ se reporta que a pesar de que más del 60% de los casos detectados de TOC habían referido problemas emocionales, sólo 8% habían acudido a un servicio de salud mental en los últimos tres meses y en el último año, 9% habían visto a un psiquiatra y 5% a un psicólogo; esto se reflejaba en los bajos

índices de tratamiento ya que únicamente el 40% de los pacientes con TOC recibían algún tratamiento, y de éstos, sólo 2% recibía inhibidores selectivos de recaptura de serotonina y 5% recibía terapia cognitivo conductual, tratamientos que se han descrito ampliamente como los más efectivos para este trastorno.

Resulta evidente que existe un gran retraso en la búsqueda de atención psiquiátrica para el TOC, un trastorno crónico con gran impacto sobre la calidad de vida del paciente y su familia, lo que ha motivado que la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo considere una de las 10 enfermedades médicas más discapacitantes.

Entre los motivos de este retraso en la atención, se ha descrito que la naturaleza egodistónica de los síntomas y el hecho de que el contenido de los síntomas le genere vergüenza y miedo al paciente, por lo que intenta ocultarlos ante la idea de ser etiquetado como “un loco”. Otro factor involucra el hecho de que los pacientes ignoran la naturaleza patológica de los síntomas y que existe un tratamiento efectivo. Finalmente muchos pacientes acuden a buscar atención psiquiátrica por los síntomas comórbidos y los síntomas obsesivo-compulsivos con frecuencia pasan desapercibidos aún por personal de salud mental, lo que hace imprescindible que el clínico los busque propositivamente, ya que es bien sabido que la búsqueda de atención para la salud mental de estos pacientes suele estar relacionada con la comorbilidad.

Con un tratamiento adecuado, hasta 90% de los pacientes con TOC pueden llegar a presentar mejoría de los síntomas. Existen discrepancias en cuanto a la evaluación de la mejoría; sin embargo se reserva el término de respuesta a tratamiento cuando la mejoría de los síntomas es del 35% con respecto a una evaluación objetiva inicial para hablar de respuesta, y los datos reportados van del 25 al 35%.

Algunos estudios han descrito que una gran proporción de los pacientes con TOC, no reciben el tratamiento que requieren, se ha descrito que hasta 35% de los pacientes nunca han recibido tratamiento farmacológico, en 16% de los casos éste ha sido inapropiado y 50% nunca ha recibido la dosis máxima efectiva descrita para el trastorno.⁷

Los datos reportados en nuestra población no han sido muy diferentes. Nicolini *et al*⁸ encontraron una edad media de inicio de 22.6 ± 9.1 años en un rango de 7 a 61 años, con duración de la enfermedad de 9.4 ± 9.1 años desde el inicio de los síntomas hasta la primera evaluación psiquiátrica. Vargas describe en su trabajo de tesis una edad de inicio promedio de 21 ± 10.5 años y tiempo medio transcurrido desde el inicio de la enfermedad hasta la primera evaluación psiquiátrica de 5.7 años y alrededor de 7 años para la primera evaluación en un centro de atención de tercer nivel.⁹

El curso de la enfermedad es hacia la cronicidad, exhibiendo un patrón de exacerbación y remisión; la remisión total de los síntomas es muy rara.²

A pesar de que los síntomas obsesivo-compulsivos son notablemente heterogéneos, se identifican como una misma identidad nosológica de acuerdo a los criterios diagnósticos actuales. Por otro lado, los modelos neurobiológicos, conductuales o del desarrollo confirmar la heterogeneidad de este trastorno.¹⁰

Inicialmente la diferenciación entre los subtipos de síntomas se realizó exclusivamente por la descripción clínica de los síntomas que presenta cada paciente, así como por características como el *insight*, edad de inicio, comorbilidad con tics, etc.

Ya que la heterogeneidad del TOC puede afectar los resultados derivados de la investigación básica y clínica, se ha planteado clasificarlo y con esto homogeneizarlo a través de diversas aproximaciones; sin embargo la forma que ha mostrado ser más consistente implica la

diferenciación por subtipos clínicas de acuerdo a pruebas estadísticas de análisis factorial, en los que se han identificado una subdivisión en un número diverso de dimensiones (factores o subtipos) que expliquen la varianza del TOC.

En 1994, Baer¹¹ obtuvo por medio de el análisis factorial de los síntomas registrados por medio de la verificación de síntomas obsesivo-compulsivos de Yale-Brown de 107 pacientes tres factores: factor de obsesiones de simetría y atesorar con compulsiones de atesorar, ordenar, repetir u contar; factor de obsesiones de contaminación y somáticas con compulsiones de limpieza y revisión, y un factor de obsesiones sexuales, religiosas y agresión, denominadas obsesiones puras y no asociadas a compulsión alguna.

Posteriormente otros autores encontraron variaciones a estos resultados al intentar replicarlos. Leckman *et al*,¹² por ejemplo, de una muestra de 292 pacientes obtuvo como resultado que la varianza del TOC se explicaba mejor por la existencia de cuatro factores, mientras que Mataix-Cols *et al*,¹³ obtuvo un modelo de cinco factores con una muestra de 354 pacientes.

En el estudio de Mataix-Cols *et al*,¹³ se analizó además la respuesta farmacológica por subtipo obtenido, con lo que encontró que con este modelo de cinco factores se explicaba el 65% de la varianza del TOC. En el primer factor se agruparon las obsesiones de simetría con compulsiones de ordenar, contar y repetir (19% de la varianza); segundo factor de obsesiones de atesorar con compulsiones de atesorar (13.8% de la varianza); tercer factor de obsesiones de contaminación con compulsiones de limpieza (12.7% de la varianza); cuarto factor de obsesiones de agresión con compulsiones de revisión (10.4% de la varianza) y un quinto factor de obsesiones sexuales y religiosas sin compulsiones (9.7% de la varianza). Considerando otros síntomas descritos y que se registran en la lista de verificación de síntomas obsesivo-compulsivos de Yale-Brown, describe que al correlacionar estos factores con los síntomas misceláneos, el primer factor se asoció a compulsiones de necesidad de saber, miedo a no decir las cosas correctamente, números de

buena o mala suerte y compulsiones de tocar; el segundo factor también se encontró asociado a compulsiones de necesidad de saber; los síntomas de miedo a decir ciertas cosas, imágenes intrusivas no violentas, sonidos, números de buena y mala suerte, significado especial de los colores y necesidad de decir/preguntar/confesar se asociaron al factor de obsesiones sexuales y religiosas.

En 2004 se realizó un estudio en los pacientes de la Clínica de Trastorno obsesivo-compulsivo y Trastornos del espectro obsesivo-compulsivo (Clínica de TOC y TEOC) del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz con los pacientes que se incluyeron en la muestra analizada para este estudio, encontrándose una distribución de los síntomas obsesivo-compulsivos en cinco factores o dimensiones muy semejante a la descrita por Mataix-Cols *et al.*¹³ con el que se explicó el 63.29% de la varianza total. Los factores descritos por Vargas⁹ son los siguientes: Factor 1 obsesiones de simetría con compulsiones de ordenar, contar y repetir (21.6% de la varianza); factor 2 obsesiones de atesorar y de agresión con compulsiones de atesorar (14% de la varianza); factor 3 obsesiones sexuales y religiosas no asociadas a compulsión alguna (11% de la varianza); factor 4 obsesiones somáticas con compulsiones de revisión (8.4% de la varianza), y factor 5 de obsesiones de contaminación con compulsiones de limpieza (8.1% de la varianza).

Más recientemente, Bloch *et al.*,¹⁴ en 2008 publicó un meta-análisis en el que se incluyeron 21 estudios de análisis factorial (5124 pacientes, de los cuales 679 participantes eran niños) en el que los autores concluyeron que existían cuatro factores o dimensiones de síntomas obsesivo-compulsivos. Stewart *et al.*¹⁵, confirmó que estos cuatro factores eran adecuados para el abordaje del TOC en adultos, niños y adolescentes (tabla I).

Ya que los resultados obtenidos con los pacientes de la Clínica de TOC y TEOC es muy similar a lo descrito por Mataix-Cols *et al.*,¹³ para la realización de este estudio emplearemos su modelo de

cinco factores, agregando las obsesiones somáticas al factor de síntomas religiosos y sexuales, como ha sido descrito por otros autores.^{14,15}

Tabla I. Análisis factorial de síntomas obsesivo-compulsivos						
Autor	Año	Edad	N	Tipo de estudio	Número de factores	Factores
Baer ¹¹	1994	Adultos	107	Análisis factorial	3	Factor1: simetría, atesorar, orden, repetir, contar; Factor 2: contaminación, somáticas, limpieza y revisión; Factor 3: sexuales, religiosas y de agresión.
Leckman ¹²	1997	Adultos	292	Análisis factorial	4	Factor 1: agresión, sexual, somáticas y religiosas; Factor 2: simetría, repetir, contar y orden; Factor 3: contaminación, limpieza; Factor 4: obsesiones y compulsiones de atesorar.
Mataix-Cols ¹³	1999	Adultos	354	Análisis factorial	5	Factor 1: simetría, orden, repetir, contar; Factor 2: obsesiones y compulsiones de atesorar; Factor 3: contaminación, limpieza; Factor 4: agresión, revisión; Factor 5: sexuales y religiosas.
Vargas ⁹	2004	Adultos	94	Análisis factorial	5	Factor 1: simetría, orden, contar y repetir; Factor 2: agresión y obsesiones y compulsiones de atesorar; Factor3: obsesiones religiosas y sexuales; Factor 4: somáticas y revisión; Factor 5: contaminación y limpieza.
Bloch ¹⁴	2008	Adultos y niños	5124	Análisis factorial exploratorio	4	Factor 1: simetría, ordenar, repetir, contar; Factor 2: pensamientos prohibidos (agresión, sexuales, religiosos, somáticas) y revisión; Factor 3: contaminación limpieza; Factor 4: atesoramiento.
Stewart ¹⁵	2008	Adultos, niños y adolescentes	356	Análisis factorial confirmatorio	4	Factor 1: agresión, sexual, religioso, somático, revisión; Factor 2: simetría, orden, repetir, contar; Factor 3: contaminación, limpieza; Factor 4: atesoramiento.

Este modelo multidimensional para el abordaje del TOC presenta como ventaja el hecho de que los factores no son mutuamente excluyentes entre sí (como ocurriría con un modelo categórico), de forma que un paciente puede presentar síntomas de más de una dimensión simultáneamente (como se observa que ocurre en los pacientes), además de que permite homogeneizar el trastorno sin dejar de pertenecer a la misma entidad nosológica.

En el curso de la enfermedad es frecuente encontrar que los síntomas varían a través del tiempo, mas se ha demostrado que tanto en muestras clínicas como en la población general, los síntomas tienden a ser más estables de lo que se pensó inicialmente, con remisión y exacerbación de los mismos dentro de la misma dimensión y raramente involucrando cambio de dimensiones, incluso en seguimientos de más de 20 años de duración.^{16, 17}

EPIDEMIOLOGÍA

Hasta el inicio de la década de los 80's, se consideraba al TOC como un padecimiento raro, mas este punto de vista cambió radicalmente a partir de reportes obtenidos a través de estudios epidemiológicos en los que se encontró una prevalencia del TOC a lo largo de la vida en un rango de 1.9% a 3.3% en Estados Unidos de América,¹⁸ y de 0.7% a 2.5% en seis países más (Taiwán, Corea, Nueva Zelanda, Alemania, Canadá y Puerto Rico).¹⁹ Sin embargo, se ha encontrado que en estos estudios la prevalencia del TOC podría estar sobreestimada, ya que al realizar evaluaciones clínicas a quienes fueron identificados con TOC en un estudio epidemiológico, se reportó una prevalencia menor.²⁰ También se ha identificado comorbilidad con al menos una neurosis más de acuerdo a la Clasificación Internacional de Enfermedades en su décima revisión (CIE-10) en 62% de los casos, siendo la más prevalente con el episodio depresivo mayor.⁶

En cuanto al TOC en la población mexicana, el único estudio epidemiológico que se ha realizado hasta la fecha es el de Caraveo-Anduaga *et al*²¹ presenta una prevalencia de TOC de 1.4% a lo largo de la vida, siendo mayor para las mujeres (1.7%) que para los hombres (0.8%), con edad de inicio a los 22.2 (\pm 9.8) años. La comorbilidad más frecuentemente identificada en este estudio, al igual que en otras poblaciones, fue con el trastorno depresivo mayor (TDM).

NEUROBIOLOGÍA DEL TRASTORNO OBSESIVO-COMPULSIVO

La causa del TOC sigue sin conocerse con certeza. Las bases biológicas implicadas en la etiopatogenia del TOC se han explorado desde varias líneas de investigación a partir de que se observó que los pacientes respondían clínicamente a la clomipramina, un antidepresivo inhibidor de la recaptura de la serotonina, y al hecho de que aparecieron algunos reportes de pacientes con TOC que presentaban disfunciones en las regiones cerebrales moduladas por neuronas serotoninérgicas, particularmente en la corteza.²²

A grandes rasgos, los modelos neurobiológicos y neuropsicológicos del TOC han ligado a los síntomas obsesivos y compulsivos con un déficit de la respuesta de control de la inhibición, de esta forma, los pacientes son incapaces de inhibir cogniciones intrusivas y ritualísticas y conductas compulsivas, esto a su vez se ha relacionado con un incremento de volumen y actividad excesiva de algunas regiones cerebrales, incluyendo la corteza frontal medial (CMF) , corteza fronto-ventral y núcleos de la base.^{23,24,25,26,27} Los principales hallazgos al respecto son:

- Mayor proporción de materia gris que blanca en pacientes con TOC que en controles, lo cual sugiere una posible anomalía del desarrollo.²³
- Hiperactivación de la CMF y durante condiciones de alto vs. bajo conflicto. Se cree que esta hiperactividad podría reflejar una respuesta compensatoria subyacente a anomalías neuronales, pero es posible que sea una alteración primaria y no compensatoria, de relevancia para la patogénesis de TOC.²³ También se ha documentado hiperactividad en núcleo caudado y núcleos de la base.^{25,27}
- Reducción en niveles de N-acetilaspártato en cíngulo anterior. El N-acetilaspártato es un marcador de pérdida o disfunción neuronal, por lo que no está claro si refleja un estado de pérdida neuronal o de disfunción neuronal.²⁴

La serotonina (5HT) constituye uno de los más importantes neurotransmisores desde el punto de vista filogenético y ontogénico, y ha sido implicada en la etiopatogenia de múltiples trastornos psiquiátricos como los trastornos afectivos, la esquizofrenia, el trastorno de angustia, la dependencia al alcohol, los trastornos de control de impulsos, los trastornos alimentarios y el TOC.²⁸

Las neuronas serotoninérgicas se localizan primariamente en estructuras del tronco cerebral y núcleos del rafe medio y dorsal, y sus receptores son mayores en número que los noradrenérgicos y parecen ser más heterogéneos; por lo menos se han identificado y clonado 14 subtipos: 5HT₁ pre y postsinápticos y tienen una actividad inhibitoria por reducción de la actividad de adenilato ciclasa vía activación de G₁; 5HT₂ es predominantemente postsináptico y tiene actividad excitatoria por activación de la fosfolipasa C vía G₀; 5HT₄, 5HT₅ y 5HT₆ activan a la adenilato ciclasa vía G_s, mientras que 5HT₃ ejecuta sus efectos excitatorios por activación de canales iónicos.²⁹

La 5HT participa en la regulación del sueño, el apetito (hipotálamo), función cognoscitiva y memoria, impulsividad y agresión (amígdala), conducta sexual (hipotálamo), función motora, modula afectividad/límbico y el sistema de resiliencia (hipocampo), y participa en la homeostasis neuronal, como factor neurotrófico y de diferenciación. De esta forma podemos concluir que el sistema serotoninérgico promueve la homeostasis por medio de la inhibición de conductas, tolerancia a estímulos adversos y control del comportamiento. En los trastornos depresivos y ansiosos se han identificado las siguientes alteraciones de este sistema:

- Disminución de concentración de triptófano plasmático.
- Disminución de 5-HIAA (ácido 5-hidroxiindolacético) en líquido cefalorraquídeo (LCR).
- Incremento de unión a 5HT₂ y 5HT_{1A} en corteza de cerebros postmortem.
- Disminución de unión a 5HT_{1A} en áreas límbicas postmortem.

- Disminución de transporte de 5HT en plaquetas.

El estudio del papel de la 5HT en la fisiopatología del TOC se inició al observar la respuesta favorable de los pacientes con TOC al ser tratados con clomipramina. Los datos reportados por estudios realizados por medio de pruebas de reto con agonistas de 5HT, metabolitos de neurotransmisores en LCR y estudios farmacológicos controlados apoyan la existencia de una disfunción serotoninérgica en el TOC.³⁰

Se ha visto una reducción en la entrada de 5HT en el circuito fronto-subcortical en pacientes con TOC, lo cual disminuye la regulación inhibitoria de serotonina en estos circuitos.³¹

La metergolina, un antagonista 5HT no específico, revierte los efectos antiobsesivos de la clomipramina. Muchos reportes indican que la metaclorofenilpiperazina (mCPP), un agonista 5HT no específico, particularmente en receptores 5HT_{2C}, 5HT_{1D}, y 5HT_{1A}, causa exacerbación de síntomas obsesivo-compulsivos. Algunos datos preclínicos también sugieren que el receptor 5HT_{1A} no está involucrado. La información con respecto a 5HT_{1D} es ambigua, encontrándose estudios que apoyan y otros que rechazan su intervención en la fisiopatología de TOC. Finalmente, los receptores 5HT₂ parecen tener importantes efectos antiobsesivos con inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina.³⁰

La dopamina se sintetiza a partir del aminoácido esencial tirosina por medio de dos reacciones, siendo la enzima limitante la tirosina hidroxilasa. Las neuronas dopaminérgicas se encuentran en tres sitios: nigroestriado (dorsolateral), mesocortical (ventromedial) y tuberoinfundibular, siendo el tracto más grande el que se origina en la sustancia negra del mesencéfalo, el cual se puede dividir en dos, la proyección mesoestriatal dorsal y mesoestriatal ventral. Se sabe que alrededor del 80% de las neuronas dopaminérgicas se encuentran en el cuerpo estriado.²³ Ejerce sus efectos por medio de los receptores dopaminérgicos, los cuales son cinco: D₁, D₂, D₃, D₄ y D₅.

La dopamina está involucrada en múltiples funciones, entre las cuales vale la pena mencionar el movimiento, inhibición de la prolactina, sensopercepción, motivación y vías de recompensa, por lo tanto, está implicada en diversas condiciones clínicas, como los trastornos del afecto, psicosis, abuso de sustancias y trastornos de ansiedad.³²

Por otro lado, la 5HT inhibe la liberación de dopamina tanto en individuos sanos, como en individuos con TOC, y esta inhibición tónica afecta la función dopaminérgica de los núcleos de la base. En un estudio realizado con tomografía computarizada por emisión de un solo fotón (SPECT) se observó un decremento significativo de la unión al transportador de dopamina en los núcleos de la base derechos tras el tratamiento con ISRS.³³

Se asoció la dopamina a la etiología del TOC al observar que alteraciones estructurales de los núcleos de la base, los cuales son ricos en inervaciones dopaminérgicas, se asocian con el surgimiento de síntomas obsesivo-compulsivos; lo mismo se observa con algunos fármacos que actúan sobre este sistema (metilfenidato, bromocriptina, cocaína). Por medio de estudios de imagen se encontraron anomalías en el circuito cortico-estriatal-tálamo-cortical.

Con respecto a la fisiopatología del TOC, se ha encontrado que hay una reducción de la unión a receptor D2 en el núcleo caudado izquierdo de pacientes con TOC, acompañado de reducción de su volumen con respecto al volumen del núcleo caudado derecho. Esto es consistente con estudios de imagen funcional que muestran tanto incremento como decremento de la actividad del caudado.³⁴

Como ya se mencionó, por medio de estudios de imagen funcional se ha implicado una disfunción cortico-estriatal-tálamo-cortical en pacientes con trastorno obsesivo-compulsivo. Estas regiones reciben una gran cantidad de inervaciones serotoninérgicas y de ahí que se tenga, en general, una buena respuesta al tratamiento farmacológico con inhibidores selectivos de la recaptura de

serotonina. Sin embargo, alrededor del 30% de los pacientes no responden a este tratamiento, lo cual nos sugiere una alteración distinta subyacente.

Por otro lado, el hecho de que sólo 50 a 60% de los pacientes con TOC presenten exacerbaciones de la sintomatología posterior a la administración de mCPP apoya la existencia de otro neurotransmisor involucrado. De esta forma se ha investigado el rol del sistema opioide y de neuropéptidos como la oxitocina y la vasopresina, mas no se ha tenido éxito.³⁵

Recientemente se comenzó a estudiar el glutamato, que es un aminoácido excitatorio presente en el sistema nervioso central. Actúa a través de cuatro tipos de receptores: inotrópicos tipo NMDA, receptor kainato, quisqualato y L-amono fosfonobutírico.

A nivel anatómico se han localizado a los receptores en diferentes regiones de los sistemas somatosensoriales; se localizan en corteza (frontal, cíngulo), núcleos de la base e hipocampo. También hay gran concentración en el septum. Finalmente se han localizado en el sistema vestibular, coclear, y con la vía visual.³⁶

En un estudio se reporta que en el caudado, las concentraciones de glutamato fueron significativamente mayores en pacientes con TOC en comparación con controles sanos. Asimismo, encontraron que los niveles de glutamato en el caudado disminuyeron significativamente tras 12 semanas de tratamiento con paroxetina.³⁷

TRATAMIENTO

En el reporte dado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1990, se considera al TOC como la decimoprimer causa no fatal de discapacidad, contribuyendo con el 2.2% del total de los años perdidos por discapacidad, porcentaje similar al obtenido para la esquizofrenia. Por otro lado, se ha visto que esta discapacidad disminuye considerablemente al iniciarse el tratamiento

adecuado.³⁸ Sin embargo, los pacientes con TOC con frecuencia son tratados inadecuadamente; Denys⁷ reporta que el 35% de los pacientes con TOC nunca han recibido tratamiento farmacológico, 16% recibieron fármacos inapropiados y 50% nunca recibió la dosis máxima efectiva de los ISRS durante el curso de su tratamiento.

En la Encuesta Nacional Británica de Enfermedades de 2000, se encontró que el 40% de los pacientes con TOC había recibido algún tipo de tratamiento, de los cuales sólo 2% recibía ISRS y sólo 5% recibía terapia cognitivo-conductual, aunque sí se observó una tendencia al incremento pues en la encuesta previa (1993), sólo el 19% de quienes fueron identificados con TOC recibían tratamiento.⁶ El tiempo transcurrido entre el inicio de la enfermedad hasta el inicio de un tratamiento apropiado ha sido hasta de 17 años.³⁹

Como ya se mencionó, la experiencia en este Instituto no es diferente.^{8,9}

El tratamiento farmacológico de primera línea para el TOC consiste en inhibidores potentes de la recaptura de serotonina, como la clomipramina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina, fluoxetina y citalopram. La clomipramina podría ser ligeramente más efectiva que los ISRS; sin embargo, los efectos secundarios, la toxicidad y las interacciones medicamentosas potenciales que se presentan con la clomipramina, hacen que usualmente se elija un ISRS como primera opción, e incluso se ha encontrado que la fluvoxamina es tan efectiva para este trastorno como la clomipramina.⁴⁰

La dosis diaria de medicamento necesaria suele ser mayor que para un episodio depresivo, la respuesta es lenta y se evalúa a las 12 semanas, por lo que los ensayos farmacológicos con un ISRS deben tener una duración de entre ocho y doce semanas, y la duración mínima del tratamiento debe ser de 12 a 18 meses, siempre y cuando no existan síntomas y se recupere el funcionamiento previo. La respuesta al tratamiento suele ser moderada, con reducción de 25 a 30% de la sintomatología.⁷

En caso de que no haya respuesta al término de las 12 semanas, pueden considerarse algunas opciones, como adicionar otro medicamento, incrementar la dosis, cambiar de medicamento o cambiar el modo de administración. Entre los medicamentos que pueden adicionarse se encuentran la risperidona, la olanzapina y la quetiapina, con lo que se espera una respuesta de 30% en las siguiente cuatro a seis semanas.⁷

Por otro lado, la combinación de farmacoterapia y terapia conductual se considera el tratamiento óptimo para el TOC. Agregar al tratamiento la terapia cognitivo-conductual es benéfico tanto para pacientes respondedores como para no respondedores a tratamiento farmacológico.⁷

Por medio de estudios de imágenes cerebrales se han observado los cambios en el flujo sanguíneo cerebral en respuesta al tratamiento farmacológico, así como al tratamiento con terapia conductual. Los efectos de los ISRS se han asociado con cambios en la actividad neural en la corteza orbitofrontal y en el núcleo caudado. En respondedores a terapia conductual se han reportado disminución en la actividad bilateral talámica, incremento en la actividad de la corteza del cíngulo anterior, disminución en el flujo sanguíneo cerebral, en el núcleo caudado y, por último, se registraron cambios en el flujo sanguíneo cerebral en la corteza frontal media y medial. También se ha identificado que una actividad metabólica mayor en la corteza orbitofrontal izquierda previa al tratamiento se ha asociado a mejor respuesta a terapia conductual, mientras que una actividad metabólica menor en la misma región previa al tratamiento, se ha asociado a mejor respuesta con fluoxetina.⁴¹

GENÉTICA EN EL TRASTORNO OBSESIVO-COMPULSIVO

La tendencia familiar del TOC fue observada desde los 1930's y corroborada a partir de los estudios en gemelos y estudios familiares. Por otro lado, los estudios de segregación, estudios de ligamiento y estudios de asociación se han identificado algunas regiones en cromosomas y genes que podrían tener un efecto en el desarrollo del TOC.²⁵

En particular, se han identificado *loci* de susceptibilidad en los cromosomas 9p, 3q, 7p, 1q, 15q y 6q. Debido a las observaciones previamente mencionadas, se ha hecho énfasis en el estudio de genes candidatos para TOC analizando variantes funcionales para el gen del transportador de serotonina (SLC6A4), los genes para receptores de serotonina (5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT₁), los genes para la triptófano hidroxilasa (TPH1 y TPH2), el gen del transportador de dopamina (DAT1), los genes de los receptor de dopamina (DRD2, DRD3, DRD4), genes relacionados al metabolismo de neurotransmisores (COMT, MAO_A) y otros genes involucrados con glutamato (GRIN2B, GRIK2, GRIK3), GABA (GABABR1), opioides (receptor μ)²⁶ y el factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF).²⁷

De particular interés han sido los estudios realizados en el gen SLC6A4 (17q12), identificándose un polimorfismo con un alelo largo (L) con ganancia de función (5-HTTPR L) asociado al TOC, pero la mayor parte de los estudios en los que se buscaba replicar el resultado obtenido por Bengel (1999) y McDougle (1998) han sido negativos (Camarena *et al* en 2001, Cavallini *et al* en 2002, Chabane *et al* en 2004, Frisch *et al* en 2000, Kinneat *et al* en 2000, Meira-Lima *et al* en 2004 y Walitza *et al* en 2004).⁴²

En el gen 5-HT1D β se reportó que el alelo G861 era preferentemente transmitido a los pacientes con TOC por Mundo *et al* en 2000 y 2002, pero Camarena *et al* (2004), Di Bella *et al* (2002) y Walitza *et al* (2004) no pudieron replicar este resultado.⁴²

Billet *et al* reportó en 1998 diferencias significativas sólo en el gen DRD4 (48 bp VNTR), y Millet *et al* en 2003 para el mismo gen, mas otros autores no pudieron replicar los resultados. Nicollini *et al* encontró en 1996 que el polimorfismo A2/A2 de DRD2 se encuentra con frecuencia mayor en pacientes con TOC y tics.⁴²

En 2003, Hall *et al*²⁷ reportó un estudio con el gen BDNF, localizado en el cromosoma 11p13, analizando cuatro polimorfismos del tipo SNPs y un marcador microsatélite. El análisis del polimorfismo Val66Met, que modifica la secuencia de la fracción a partir de la cual se transcribe el BDNF; reportó que el alelo Met66 podría tener un efecto protector en el TOC y otros trastornos psiquiátricos, pero es poco transmitido.²⁷ No obstante, estos resultados no han podido ser replicados hasta la fecha.^{45,46,47,48,49,50,51,52}

La falta de consistencia entre los estudios que exploran el componente genético del TOC puede deberse, entre otros factores, a la heterogeneidad clínica del trastorno, ya que se piensa que la diversidad fenomenológica y terapéutica de este trastorno podría reflejar la heterogeneidad de los genes de susceptibilidad.⁴⁵ Con el abordaje multidimensional del trastorno se espera que este problema disminuya.

ESTUDIOS GENÉTICOS EN POBLACIÓN MEXICANA

En la población mexicana se ha investigado ampliamente la etiología molecular del TOC. En 1996, Nicolini *et al*⁵³ analizó la asociación de polimorfismos de los receptores para dopamina tipo 2 (DRD2), tipo 3 (DRD3) y el receptor para serotonina 5HT_{2A} con el TOC, encontrando que la frecuencia en que se presentaban estos polimorfismo no era estadísticamente distinta a la frecuencia con que fueron identificados en el grupo control; sin embargo, encontraron que los homocigotos DRD2/A2A2 en sujetos con tics motores y vocales tendían a diferir significativamente

a los controles, con lo que concluyen que los pacientes con tics representan un subtipo genético distinto de la enfermedad.

Posteriormente, Camarena *et al*⁵⁴ reportó una menor frecuencia del alelo 4R del receptor D4 para dopamina (DRD4) en una muestra de pacientes con TOC que en el grupo control, particularmente del alelo corto 4R, y una mayor frecuencia de los alelos largos, confirmaron que no hay asociación entre el alelo 7R del gen y el TOC con tics, pero identificaron una diferencia significativa en el alelo 6R, siendo más frecuente en pacientes con TOC con tics que en el grupo control.

En lo que respecta al sistema serotoninérgico, Camarena *et al*⁵⁵ no encontró una asociación entre el alelo largo del gen para el 5-HTTLPR y el TOC comparado con un grupo control y en un estudio familiar. Tres años más tarde, Camarena *et al*,⁵⁶ al analizar la asociación del gen para el autorreceptor 5-HT_{1Dβ}, identificó que la variante del gen G861 podría estar involucrada en la severidad del TOC.

Por último, en 2004, Urraca *et al*⁴³, exploró la posibilidad de que el gen para el receptor μ para opioides (MOR) estuviera involucrado en la etiología del TOC, identificando una tendencia a la significancia en la prueba de desequilibrio de transmisión de la variante 118-A en el grupo de TOC con tics, pero no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa en la transmisión alélica del polimorfismo A118G en tríos con TOC, por lo que los autores concluyeron que no hay una asociación significativa entre el TOC y el MOR.

FACTOR DE NEUOTRÓFICO DERIVADO DE CEREBRO

El BDNF es miembro de la familia de las neurotrofinas. Las neurotrofinas son péptidos esenciales para la diferenciación y sobrevivencia de las neuronas, incluso pueden jugar un papel importante

en la plasticidad neuronal. Tras la identificación del factor de crecimiento nervioso, se descubrieron múltiples factores neurotróficos en mamíferos, incluyendo el BDNF, el cual se encuentra ampliamente distribuido en el cerebro. Los factores neurotróficos comparten una estructura química semejante, son sintetizados como proteínas precursoras (proneurotrofinas), y una vez secretadas en su forma madura, facilitan la dimerización del receptor y por tanto la fosforilación de éste.⁵⁷

En neuropsiquiatría, el BDNF ha sido asociado a múltiples trastornos, como abuso de sustancias, trastornos de conducta alimentaria, trastornos del afecto, esquizofrenia, modulación del dolor y epilepsia.⁵⁸

En una revisión de 23 estudios en los que se analizaban los niveles de BDNF pre y postratamiento en pacientes con trastorno depresivo mayor, así como en comparación con controles sanos, se encontró que hay una asociación significativa en los niveles de BDNF y modificaciones en la sintomatología depresiva y el período de tratamiento, concluyéndose que los niveles en sangre de BDNF se incrementan cuando la depresión es tratada e incluso son mayores en los pacientes postratamiento que los encontrados en controles sanos.⁵⁸

Se han identificado algunos polimorfismos del gen de BDNF, de los cuales, el más estudiado es el polimorfismo Val66Met (Figura I). En dos estudios de asociación entre este polimorfismo y la Esquizofrenia, no se encontró asociación alguna; mientras que para el Trastorno bipolar, se han reportado muchos resultados positivos para el alelo Val (alelo G), el cual, de acuerdo a estos estudios, confiere predisposición para a presentar el trastorno. Sin embargo, dos estudios de asociación no pudieron replicar este resultado.⁵⁹

Figura I. Gen BDNF, localizado en el cromosoma 11q14⁶⁰



El polimorfismo Val66Met es un SNP del gen de BDNF en el que una metionina sustituye a una valina en la posición 66 en el prodominio (Val66Met) en la proteína BDNF humana debido a un cambio en la secuencia del gen de una G por una A en la posición 196 del exón IX. En 2003, Egan *et al*⁶¹ reportó que el alelo Met está asociado a una disminución en la memoria episódica, activación hipocampal anormal y menor N-acetil-aspartato (NAA). Este polimorfismo sólo existe en humanos y también se ha asociado a susceptibilidad para una variedad de trastornos psiquiátricos.^{62,63}

El BDNF tiene dos receptores de superficie a través de los cuales actúa, el p75NTR, miembro de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF), y el receptor tirosina cinasa B (TrkB). La unión de BDNF a este último produce una respuesta neurotrófica mediante una rápida activación de las vías de fosfatidil inositol-3 cinasa (PI3), Ras/MAPK (mitogen-activated protein kinase) y fosfolipasa- γ (PLC γ), con lo que influye en eventos transcripcionales que tienen múltiples efectos en el ciclo celular, crecimiento neural y plasticidad sináptica.⁶²

La señalización transduccional a través de p75NTR causa incremento independiente en la cinasa N-terminal c-Jun (JNK) y el factor nuclear- κ B (NK- κ B) por lo que desencadena apoptosis.⁶⁴

El conocimiento de la estructura y regulación del gen BDNF ha incrementado constantemente en los últimos años, por lo que la nomenclatura de sus distintas regiones ha cambiado y varía de un reporte a otro. Inicialmente, el polimorfismo Val66Met había sido descrito en el exón 6,⁴⁴ otros autores lo refieren en el exón 8,⁶⁰ o en el exón 9⁶⁵, pero siempre se ha descrito que sólo un exón da origen a la molécula madura BDNF. En el presente estudio se empleará la estructura para el gen

descrita por Pruunsild *et al*,⁶⁵ en la que describe 11 exones, siendo el exón IX el que contiene el polimorfismo Val66Met.

La sustitución Met en el gen de BDNF derivada del polimorfismo Val66Met produce tres defectos: 1) decremento de la variante BDNF en dendritas neuronales, 2) decremento de la variante BDNF en localizar los gránulos secretores, y 3) subsecuente alteración en la secreción regulada. Además, al expresarse juntos en la misma célula, el BDNF_{Met} altera el tráfico de BDNF_{Val} a través de la formación de heterodímeros que son llevados a las vías de secreción menos eficientemente.^{62, 66}

En este estudio analizaremos tres regiones del gen BDNF, el polimorfismo Val66Met (rs6265), así como dos regiones más localizadas en el extremo UTR3', nunca estudiadas en este trastorno. En la tabla IV se muestran las frecuencias por genotipo reportadas por el proyecto HapMap para nuestra población.⁶⁷

Tabla II. Frecuencia de genotipos de rs6265, rs1519480 y rs7124442 en población de origen mexicano*					
rs6265		rs1519480		rs7124442	
GG	0.66	GG	0.24	TT	0.58
GA	0.26	GA	0.54	CT	0.38
AA	0.08	AA	0.22	CC	0.04
* Información disponible en http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov					

EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA

La epidemiología se define como el estudio de la distribución, determinantes y control de los estados relacionados con la salud y los eventos en una población. La epidemiología genética surge de la fusión de la epidemiología y de la genética y aunque permanece estrechamente relacionada con la epidemiología tradicional, se enfoca en los determinantes familiares, y en particular genéticos, de la enfermedad y su efecto conjunto de los genes y determinantes no genéticos.⁶⁸

Con los avances de la tecnología y el conocimiento biológico, la labor realizada por quienes estudian las consecuencias de las variantes genéticas sobre la salud continúa evolucionando, de

forma que el conocimiento de la biología subyacente, asociado a las herramientas de inferencia de la epidemiología moderna y bioestadística, han permitido que se responda a importantes preguntas etiológicas.

Una de las herramientas más importantes de la epidemiología genética es el análisis de ligamiento, en el que se identifica un marcador que se estima se encuentra cercano (no necesariamente dentro del mismo gen) a la variante causal de una enfermedad; sin embargo, la epidemiología genética actualmente se enfoca cada vez más en enfermedades complejas como la diabetes mellitus, hipertensión arterial y los trastornos psiquiátricos. Se les conoce como enfermedades complejas ya que característicamente están causadas por varios genes que interactúan entre sí, asociados a factores ambientales.⁶⁸

Los estudios de agregación familiar constituyen otra herramienta importante para la evaluación de la evidencia indirecta de la contribución genética a la causa de la enfermedad. Epidemiológicamente, la agregación familiar se refiere a la mayor frecuencia de una enfermedad en familiares cercanos de individuos que presentan la enfermedad que en familiares de individuos que no la presentan.

Para estimar la extensión en la que cualquier agregación familiar es debida a los genes, se cuenta con modelos biológicos racionales que especifican cómo un fenotipo de interés podría estar modulado por el efecto de uno o más genes.

Los diseños que involucran a familias (fortaleza tradicional de la epidemiología genética) y el muestreo de población (fortaleza tradicional de la epidemiología ambiental) permiten la investigación tanto de factores genéticos como ambientales, por separado o simultáneamente, y permite la inferencia válida a la población.⁶⁹

Por otro lado, los estudios de asociación buscan detectar una asociación entre uno o más polimorfismos genéticos y un rasgo, el cual puede ser una característica cuantitativa o un atributo discreto o enfermedad. La asociación opera sólo sobre distancias cortas en el genoma, y una asociación puede darse en una población dada en tres circunstancias: 1) el polimorfismo tiene un papel causal; 2) el polimorfismo no tiene un papel causal, pero está asociado a una variante causal cercana, y 3) la asociación es debida a una estratificación subyacente o combinación de la población.⁷⁰

JUSTIFICACIÓN

El factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF) es el miembro más abundante en el cerebro de la superfamilia de las neurotrofinas, particularmente en el hipocampo y la corteza cerebral.

El gen BDNF fue localizado en la posición cromosomal 11q14.1; se trata de un gen complejo del que se han descrito 11 exones,⁶⁵ de los que al menos nueve exones cuentan con su propia región promotora. Se ha encontrado que da lugar a diversos transcritos a través de empalme alternativo, generando incluso moléculas con funciones opuestas totalmente y transcritos RNAm reversos de los que aún se desconoce su función.^{64, 65}

El exón IX contiene la secuencia para codificar el BDNF maduro. Esta proteína está involucrada en el neurodesarrollo, la sobrevivencia neuronal, la morfología y su diferenciación, así como la modulación de la plasticidad sináptica y su eficiencia. Se ha encontrado que está involucrada con la regulación de la actividad proteica en las terminales presinápticas, de tal manera, el BDNF modula la transmisión sináptica a corto y largo plazo.

También se considera la posibilidad de que el BDNF juegue un papel importante como transmisor extracelular ya que es transportado anterógradamente y es liberado con la despolarización, disparando señales intracelulares rápidas vía el receptor de membrana tirosina cinasa B (TrkB).

De particular importancia, se ha reportado que el BDNF promueve y aumenta la función y crecimiento de las neuronas serotoninérgicas en el cerebro, induce el crecimiento de terminales nerviosas serotoninérgicas y modula la función del transportador de serotonina (5-HTT).

Se ha sugerido que el BDNF también podría afectar la expresión de la dopamina pues se ha encontrado que estas dos moléculas se potencian una a la otra, particularmente en el estriado. De hecho, se ha observado que el estrés crónico disminuye la expresión de los genes BDNF y el DRD3, mientras que el uso crónico de antidepresivos, incrementa la expresión de ambos genes, y el incremento de la expresión de BDNF en el estriado está asociado a la prevención de conductas estereotipadas.⁶²

Debido a su importancia en el adecuado funcionamiento del sistema serotoninérgico y dopaminérgico, el gen BDNF resulta de particular importancia para la investigación de la etiología molecular del TOC. Con base en esta observación, Hall *et al*⁴⁴ publicó en 2003 un estudio en el que analizó la posible asociación de cuatro SNP y un marcador microsatelital a una distancia de 56 kilobases del gen BDNF y susceptibilidad para el TOC en 164 tríos probando-padres. De este estudio se identificó que un polimorfismo en el que una valina es sustituida por una metionina en la posición 66 de la preproteína, (alelo Met66) confiere un efecto protector en el TOC. Zai *et al*,⁵⁰ Mössner *et al*⁴⁹ y Wendland *et al*,⁴⁵ Dickel *et al*⁵¹ y Klaffke *et al*⁵² no pudieron replicar estos hallazgos en muestras de pacientes en otros estudios, y los resultados de Alonso *et al*⁴⁷, Hemmings *et al*⁴⁶ y Katerberg *et al*⁴⁸ obtuvieron resultados que si bien no fueron significativos y por tanto no confirman la asociación, sugieren que el gen sí podría estar implicado en la etiología molecular del TOC.

El estudio publicado por Alonso *et al*⁴⁷ con una muestra de pacientes caucásicos españoles apoya el rol de la vía de señalización BDNF/NTRK2 (NTRK2, receptor tipo 2 tirosina cinasa) en la susceptibilidad para TOC, mas no encontró diferencias significativas entre el genotipo BDNF de pacientes con TOC y los controles.

Recientemente, Hemmings *et al*,⁴⁶ asoció el alelo Met66 con un inicio más temprano del TOC en hombres, pero el genotipo Val/Val con una presentación más grave del trastorno en mujeres; un año más tarde, Katerberg *et al*⁴⁸ incrementó la muestra e hizo un reanálisis, con lo que identificó una tendencia para una asociación positiva entre el factor de obsesiones religiosas y sexuales y el genotipo Val/Val, además de encontrar una asociación estadísticamente significativa entre el genotipo Met/Met y un inicio de los síntomas más tardío en mujeres y una tendencia a puntuaciones más bajas en la gravedad del trastorno en mujeres portadoras del alelo Met (Val/Met y Met/Met).

Las tablas III y IV muestran los resultados obtenidos en estudios de epidemiología genética realizados hasta la fecha.

Tabla III. Estudios de asociación basados en familias de variantes de BDNF en el TOC

Estudio	Población	N	Criterios diagnósticos	Diagnóstico	Prueba	Alelos transmitidos		p
						Val66	Met66	
Hall (2003) ⁴⁴	EUA	164	DSM-IV	TOC	TDT	58	26	0.0005
Mössner (2005) ⁴⁹	Alemania	67	DSM-IV	TOC sin ST	TDT	17	20	0.62
Zai (2005) ⁵⁰	Canadá	152	DSM-IV	TOC	FBAT			0.587
Dickel (2007) ⁵¹	EUA	54	DSM-III-R	TOC con o sin ST	TDT	15	15	1.0
Klaffke (2006) ⁵²	Alemania	88	DSM-III-R	ST con o sin TOC	ETDT	24	30	0.414

TOC, Trastorno obsesivo-compulsivo; ST, Síndrome de Tourette; TDT, Prueba de desequilibrio de transmisión; FBAT, Prueba de asociación basada en familias; ETDT, Prueba extendida de desequilibrio de transmisión.

Los resultados obtenidos hasta el momento con respecto a la posible implicación del gen BDNF y su vía de señalización en la etiología molecular del TOC no son concluyentes y dada la heterogeneidad del trastorno y las diferencias genómicas entre las poblaciones, resulta de gran interés investigar la posible implicación de este gen en el TOC en la población mexicana, ya que como se mostró en estudios genéticos previos, los resultados obtenidos en población mexicana pueden diferir de los obtenidos en poblaciones distintas.

Por otro lado, la etiología molecular del TOC ha sido ampliamente investigada en nuestra población, el análisis del gen BDNF aún no ha sido motivo de estudio.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe asociación entre los polimorfismos rs6265 (Val66Met), rs1519480 y rs7124442 del gen BDNF y el TOC en una muestra clínica mexicana?

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Identificar si existe una asociación entre los polimorfismos rs6265 (Val66Met), rs1519480 y rs7124442 del gen BDNF y el TOC en población mexicana.

Tabla IV. Estudios de casos y controles de asociación de variantes de BDNF en el TOC

Estudio	Población	N	Criterios diagnósticos	Diagnóstico	Prueba	Genotipo			p		
						Val/Val	Val/Met	Met/Met	Alelo	Genotipo	
Wendland (2007)⁴⁵	Caucásicos estadounidenses	295	DSM-IV	TOC con o sin tics	χ^2 /Fisher	Pacientes	0.65	0.31	0.04	0.950	1.0
						Controles	0.65	0.31	0.04		
						Pacientes masc.	0.66	0.30	0.04	0.715	0.876
						Controles masc.	0.63	0.32	0.04		
						Pacientes fem.	0.64	0.32	0.04	0.612	0.844
						Controles fem.	0.67	0.30	0.03		
Hemmings (2008)⁴⁶	Caucásicos africanos	112	DSM-IV	TOC con o sin tics	Regresión logística/ χ^2	Pacientes	0.65	0.30	0.05	0.355	0.249
						Controles	0.68	0.31	0.01		
						Pacientes masc.	0.58	0.33	0.09	0.036	0.117
						Controles masc.	0.76	0.24	0.0		
						Pacientes fem.	0.73	0.25	0.02	0.438	0.717
						Controles fem.	0.65	0.33	0.02		
Alonso (2008)⁴⁷	Españoles	115	DSM-IV	TOC con o sin tics	Regresión logística				n.s.	n.s.	
Katerberg (2009)*⁴⁸	Holandeses	220	DSM-IV	TOC con o sin tics + TOC subclínico	Fisher	Pacientes	0.60	0.34	0.06	0.123	0.065
						Controles	0.66	0.31	0.03		
						Pacientes masc.	0.65	0.32	0.03	0.887	0.914
						Controles masc.	0.65	0.33	0.02		
						Pacientes fem.	0.56	0.36	0.08	0.071	0.025
						Controles fem.	0.66	0.30	0.04		

*En este estudio se incluye la muestra de Hemmings (2008), por lo que solo se presentan los datos obtenidos con los pacientes que no habían sido analizados previamente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar la frecuencia con que se presentan los polimorfismos rs6265 (Val66Met), rs1519480 y rs7124442 del gen BDNF en la población mexicana.
2. Analizar la transmisión de variantes del gen BDNF en familias con TOC.
3. Analizar las características clínicas asociadas a los polimorfismos rs6265 (Val66Met), rs1519480 y rs7124442 del gen BDNF en una muestra de pacientes con TOC.
4. Realizar un análisis por haplotipos de las tres regiones genotipificadas del gen BDNF y asociarlo a las variables clínicas de la muestra de pacientes con TOC de origen mexicano.

HIPÓTESIS

Existe una asociación entre los polimorfismos rs6265 (Val66Met), rs1519480 y rs7124442 del gen BDNF y el TOC en una muestra clínica de sujetos de origen mexicano.

PARTE II

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

De acuerdo a la clasificación de Feinstein,⁷² este estudio es prospectivo, transversal, comparativo y heterodémico.

De acuerdo a la metodología genética, se trata de un estudio de asociación de casos y controles, y un estudio de asociación basado en familias.

POBLACIÓN EN ESTUDIO

La muestra consistió en 260 pacientes con TOC obtenidos de la consulta externa de la Clínica de Trastorno Obsesivo-Compulsivo y Trastornos del Espectro Obsesivo-Compulsivo del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón De La Fuente Muñiz en el período de 2000 a 2010, cuyo diagnóstico principal es Trastorno Obsesivo-Compulsivo de acuerdo a los criterios diagnósticos del DSM-IV y DSM-IV-TR, y un grupo control de 283 sujetos sin diagnóstico en eje I, evaluados mediante una escala de tamizaje denominada SCL-90).

El diagnóstico de los pacientes con TOC se realizó por medio del MINI (Evaluación neuropsiquiátrica internacional en su versión en español) y corroborado por una entrevista clínica con psiquiatras expertos en TOC de la Clínica de TOC y TEOC del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. En esta entrevista se incluye la búsqueda intencionada de otros síntomas psiquiátricos además de los correspondientes a los síntomas obsesivo-compulsivos.

Todos estos datos están consignados en el expediente clínico de los pacientes, así como en el expediente clinimétrico de la Clínica de TOC y TEOC.

Para el estudio de asociación basado en familias, se seleccionaron de los 260 casos aquellos con los que se contaba con muestra de DNA de sus padres, obteniéndose un total de 109 familias de diferente estructura, de las cuales 68 fueron tríos (padre, madre y probando), 41 fueron diadas (padre o madre y probando), y en 11 casos se contó además con la participación de hermano(s) y/o hijo(s) para analizar la transmisión de alelos de los padres al sujeto afectado.

El DNA de los sujetos que se incluyeron en el estudio pertenece al banco de DNA de pacientes TOC del Departamento de Genética del Instituto Nacional de Psiquiatría.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Casos: Los sujetos fueron de origen mexicano con diagnóstico principal de Trastorno obsesivo-compulsivo que asistieron a la Clínica de TOC y TEOC del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón De la Fuente Muñiz y que aceptaron participar en el estudio.
- Se consideró sujeto de origen mexicano a aquellos que hayan nacido en México, con padres y abuelos mexicanos; por otro lado, se consideró el TOC como diagnóstico principal si fue el motivo de consulta o si debido a su gravedad constituye el padecimiento que genera mayor disfunción en el paciente.
- Controles: sujetos de origen mexicano que no tenían un diagnóstico de trastorno mental en el eje I de acuerdo a la escala SCL 90 y que aceptaron participar en el estudio.
- Familiares de primer grado: el padre, la madre, hermanos o hijos de pacientes con TOC que aceptaron participar.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Sujetos con diagnóstico de TOC y comorbilidad con otro diagnóstico en eje I de acuerdo a DSM-IV-TR cuyo diagnóstico principal no sea el TOC.
- Sujetos con diagnóstico de TOC y comorbilidad con trastornos psicóticos crónicos.

VARIABLES

Variables incluidas en el estudio:

- El diagnóstico de TOC de acuerdo al DSM-IV y DSM-IV-TR.
- Variables sociodemográficas (edad, género, ocupación, escolaridad y estado civil).
- Variables clínicas (edad de inicio, historia familiar de TOC y psicopatología, subtipo de síntomas, gravedad, comorbilidad).
- Los genotipos de los polimorfismos rs6265 (Val66Met), rs1519480 y rs7142224 del gen BDNF.

MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

INFORMACIÓN CLÍNICA

La información clínica fue recabada del expediente de la Clínica de TOC y TEOC o del expediente clínico, en el que se encuentran evaluaciones de los síntomas obsesivo-compulsivos y diagnósticos consignados con búsqueda propositiva de trastornos del espectro obsesivo-compulsivo, trastornos

afectivos, ansiosos y síntomas psicóticos, así como otras variables clínicas como historia familiar y edad de inicio, y datos sociodemográficos.

La gravedad de los síntomas se registró de acuerdo a la Escala de gravedad de síntomas obsesivo-compulsivos de Yale-Brown⁷³ en su versión en español.⁷⁴ El subtipo de síntoma se estableció de acuerdo a los síntomas registrados en la lista de verificación de síntomas obsesivo-compulsivos de Yale-Brown; el síntoma principal (síntoma blanco) definió el subtipo al que pertenecía cada paciente.

Entre los Trastornos del espectro obsesivo-compulsivo se incluyó al Trastorno dismórfico corporal, Trastornos de la conducta alimentaria, Hipocondría, Tricotilomanía y otros Trastornos del control de los impulsos, Trastorno por tics.

ANÁLISIS GENÉTICO

EXTRACCIÓN DE DNA GENÓMICO

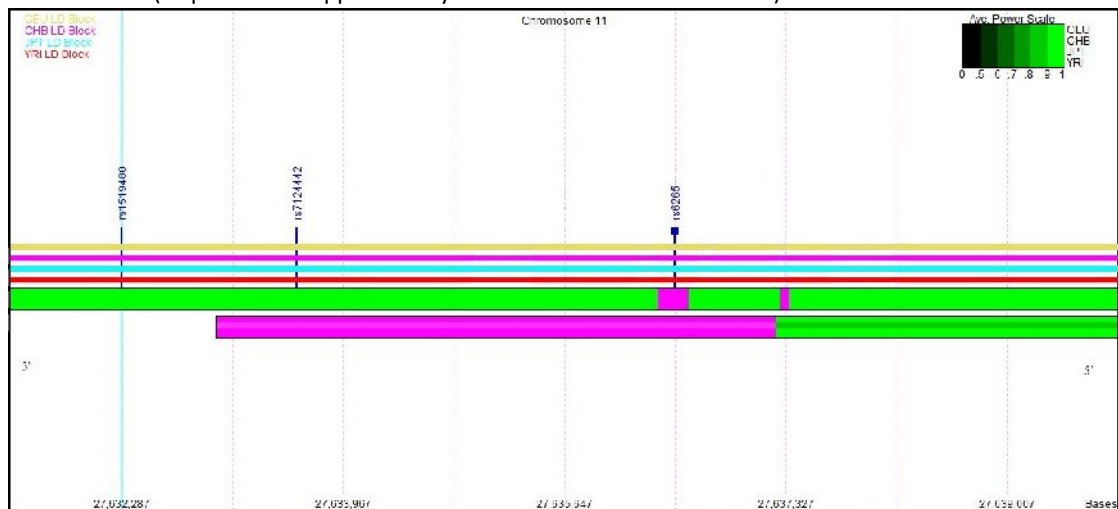
El material genético utilizado en el estudio fue obtenido del banco de DNA de pacientes con TOC del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. La extracción fue realizada mediante el uso del kit de extracción Wizard Genomic DNA Purification a partir de 5 mL de sangre periférica.

ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMOS rs6265 (VAL66MET), rs1519480 Y rs7124442 DEL GEN BDNF

El presente estudio incluyó la genotipificación de tres regiones del gen BDNF. La región rs6265 se encuentra localizada en el exón 9, mientras que las regiones rs1519480 y rs7124442 se encuentran en la región UTR 3' del gen. En la figura 2 se muestra la localización de las tres regiones.

La genotipificación de las regiones se realizó mediante la Reacción en Cadena de Polimerasa en Tiempo Real (PCR-RT) con el método de discriminación alélica con sondas TaqMan mediante el software de detección de secuencias versión 1.3.1 7500 System SDS Software.

Figura 2. Localización de las regiones rs6265, rs1519468 y rs7124442 en el gen BDNF, localizado en el cromosoma 11 (disponible en Applied Biosystem SNPBrowser™ versión 4.0)

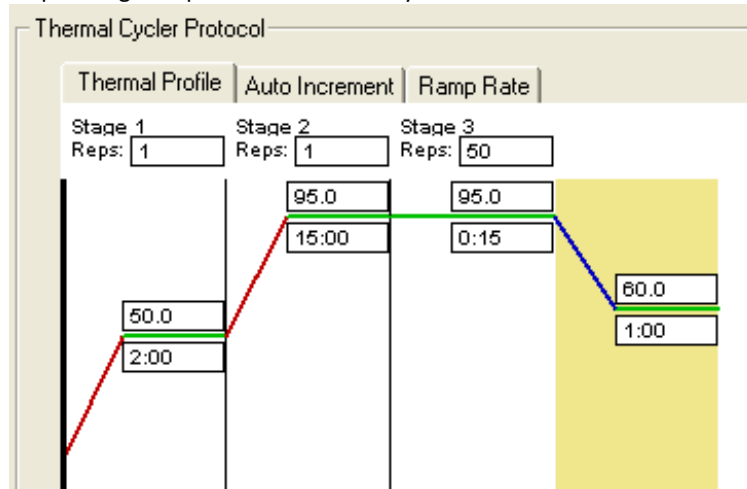


ANÁLISIS GENÉTICO DE LOS SNP rs6265 Y rs1519480

Las características de los polimorfismos, diseño de las sondas y número de ensayo se muestran en la tabla V.

El volumen final de la reacción fue de 7 μ L con las siguientes condiciones de reacción: 2 μ L de DNA en una concentración de 20ng/ μ L, 2.5 μ L de TaqMan Master Mix, 2.367 μ L de agua para PCR y 0.125 μ L de 20x de las sondas "Assay made to order", ensayo C__11592758_10 y C__11592757_20. Se muestra a continuación las condiciones de la reacción.

Figura 3. Condiciones de la reacción de PCR en tiempo real, 7500 System SDS Software versión 1.3.1 para la genotipificación de rs6265 y rs1519480.



ANÁLISIS GENÉTICO DE LOS SNP rs6265 Y rs1519480

En el caso de la región rs7124442 del gen BDNF, las características del SNP se muestran en la tabla V. El volumen final fue de 12.7 μL , con las siguientes condiciones de reacción: 4 μL de DNA en una concentración de 20 $\text{ng}/\mu\text{L}$, 6.25 μL de TaqMan Master Mix, 2.14 μL de agua para PCR y 0.3 μL de 20x de las sondas "Assay made to order", ensayo C_27833027_10. En la siguiente figura se muestran las condiciones de la reacción.

Figura 4. Condiciones de la reacción de PCR en tiempo real, 7500 System SDS Software versión 1.3.1 para la genotipificación de rs7124442.

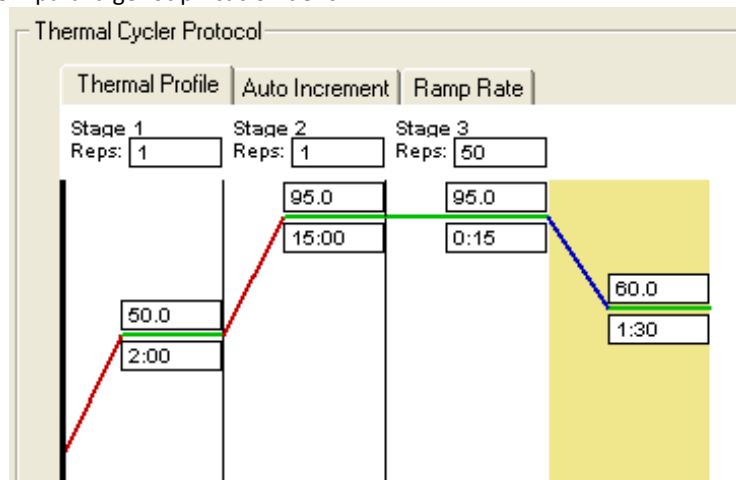


Tabla V. Descripción de los polimorfismos candidatos estudiados en el análisis de asociación genético, indicando la localización de la variante y la secuencia amplificada.

Gen	ID de la variante	Variante DNA	Dominio	Secuencia amplificada	ID Ensayo
BDNF (11p14.1)	rs6265	SNP [G→A]	Exón 9 ⁶⁵	CATCATTGGCTGACACTTTCGAACAC[A/G] TGATAGAAGAGCTGTTGGATGAGGA	C_11592758_10
	rs1519480	SNP [G→A]	UTR 3'	GTCTACGAAAAAAGGAATTACCGGG[G/A] AAGAGACTAAATTTAGGAAGGTAA	C_11592757_20
	rs7124442	SNP [T→C]	UTR 3'	AAAGGAAGCTGCATAAAGTTGACATA[C/T] AGCAGATATTCCAAGCATTCTTAC	C_27833027_10

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de las características clínicas y demográficas, se utilizaron frecuencias y porcentajes para las variables categóricas, y promedios y desviación estándar (DE) para las variables continuas.

Como pruebas de hipótesis en la comparación de la frecuencia de los genotipos identificados en pacientes con TOC y el grupo de sujetos control se utilizaron chi cuadradas (χ^2) para contrastes categóricos y análisis por ANOVA para contrastes continuos; cuando la n total a analizar se encontraba por debajo de 85, se empleó la prueba de Fisher en la comparación de frecuencias de los genotipos asociados a variables clínicas. El nivel de significancia estadística fue fijado para múltiples pruebas mediante la corrección de Bonferroni tomando en cuenta las tres regiones genéticas analizadas, siendo ajustada la significancia a un valor $p < 0.016$. Para el análisis de la transmisión de alelos en el estudio de asociación basado en familias, se empleó el programa de genética poblacional FBAT (*Family Based Association Test*).

El análisis de los haplotipos conformados por las variantes rs6265/rs1519480/rs7124442 se realizó mediante el programa estadístico THESIAS (Testing Haplotype Effects in Association Studies),⁷⁵ que

realiza un análisis del efecto de cada haplotipo sobre fenotipos cuantitativos, de tal manera que se llevó a cabo el análisis de la edad de inicio, puntuación del Y-BOCS, puntuación en las subescalas de obsesiones y compulsiones de Y-BOCS.

IMPLICACIONES ÉTICAS

Este estudio fue considerado como una Investigación con riesgo mínimo, ya que las muestras provinieron del banco de DNA del Departamento de Genética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón De la Fuente Muñiz obtenidas previo consentimiento informado.

En lo que respecta a la confidencialidad de la información, a cada paciente y sus familiares que aceptaron participar se les asignó un folio de protocolo (individual y por familia); asimismo, las muestras de material genético se identifican por medio de un número de identificación, por lo que los nombres y datos generales obtenidos sólo serán del conocimiento del investigador principal y no aparecerá en reporte alguno generado por este estudio.

PARTE III

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA MUESTRA

Se incluyó un total de 260 pacientes con diagnóstico principal de TOC, 185 familiares de primer grado (72 padres, 101 madres, diez hermanos y dos hijas) y 283 controles. El 62% de las familias incluidas en el estudio de asociación basado en familias fue de tipo trío, el 38% restante fue de tipo diada.

De los 260 pacientes con diagnóstico principal de TOC incluidos en el estudio, 49.2% (128) fueron hombres y 50.8% (132) fueron mujeres. Se obtuvo información clínica del 56.5% de la muestra y del resto sólo se tuvo el género. En cuanto a los controles, el 51.2% (145) fueron hombres y 48.8% (138) fueron mujeres. En la tabla VI se presentan los datos demográficos de los 143 pacientes con TOC de quienes se obtuvo información clínica, así como de los 283 controles. La edad promedio de los sujetos control difirió significativamente de la edad promedio de los pacientes con TOC en la muestra total y por género ($p < 0.05$).

Variables	TOC			Controles		
	Total	Hombres	Mujeres	Total	Hombres	Mujeres
n (%)	143	65 (44.5%)	78 (54.5%)	283	145 (51.2%)	138 (48.8%)
Edad años (DE)	30.17 (11.10)	26.45 (9.93)	33.29 (11.17)	46.28 (13.56) ¹	48.30 (14.03) ¹	44.32 (12.64) ¹

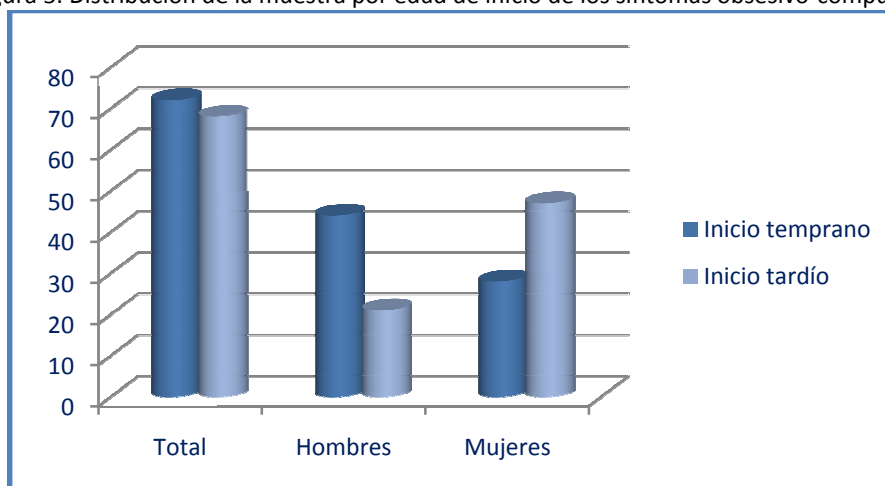
¹ Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).
DE, desviación estándar.

De los 91 pacientes de los que se obtuvo información referente a su historia familiar, siete (7.7%) tuvieron un familiar de primer grado con diagnóstico conocido de TOC, y cuatro (4.4%) refirieron tener algún familiar con un trastorno del espectro obsesivo-compulsivo.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA MUESTRA

La edad promedio de inicio del TOC en la muestra general fue de 20.50 ± 9.62 años (rango de 6 a 52 años). En los hombres, el rango de edad fue de 6 a 44 años y en las mujeres de 6 a 52 años. El inicio de los síntomas fue más temprano en hombres (17.40 ± 8.28 , rango 6 a 44 años) que en mujeres (23.05 ± 9.94 , rango 6 a 52 años), lo cual fue estadísticamente significativo ($p=0.0005$). Para la realización de algunos análisis dividimos a la muestra en dos grupos de acuerdo a la edad de inicio. Utilizamos el punto de corte de 20 años para determinar el “inicio temprano” cuando el trastorno comenzaba antes de los 20 años y de “inicio tardío” cuando comenzaba a los 20 años o más. En la figura 5 se muestra la distribución de la muestra por edad de inicio de los síntomas obsesivo-compulsivos.

Figura 5. Distribución de la muestra por edad de inicio de los síntomas obsesivo-compulsivos



Para evaluar la gravedad de los síntomas obsesivo-compulsivos se utilizó la subescala de gravedad de Yale-Brown; la puntuación promedio obtenida por los pacientes al momento de la evaluación fue de 25.92 ± 7.30 , que resultó ser muy semejante entre hombres y mujeres. En la tabla VII se muestran las características clínicas de los pacientes.

Tabla VII. Características clínicas de 143 Pacientes con TOC

Variables	TOC	Hombres	Mujeres
N	143	65 (44.5%)	78 (54.5%)
Edad de inicio (años)	20.50 ± 9.62	17.40 ± 8.28	23.05 ± 9.94
Y-BOCS-T	25.92 ± 7.30	26.44 ± 6.61	25.50 ± 7.85
Y-BOCS-O	13.31 ± 3.67	13.47 ± 3.47	13.19 ± 3.85
Y-BOCS-C	12.49 ± 4.65	13.00 ± 3.82	12.06 ± 5.16
Diagnóstico tics	5 (3.5%)	1 (1.54%)	4 (5.1%)
Comorbilidad	93 /134 (69.4%)	42/59 (71.86%)	52/75 (69.3%)

Y-BOCS-T, Puntuación total en Escala de obsesiones y compulsiones de Yale-Brown total; Y-BOCS-O, Puntuación en subescala de obsesiones y compulsiones de Yale-Brown obsesiones; Y-BOCS-C, Puntuación en subescala de compulsiones Escala de de obsesiones y compulsiones de Yale-Brown

En lo que respecta a la comorbilidad, pudimos contar con información registrada de 134 pacientes (51.5% de la muestra total de pacientes con TOC) y encontramos que el 69.4% presentaba al menos un diagnóstico psiquiátrico comórbido en el eje I al momento de la evaluación. En la figura 6 se presenta la distribución de número de diagnósticos comórbidos general y por género. En la tabla VIII se muestra a qué diagnósticos correspondieron.

Figura 6. Distribución de comorbilidad por número de diagnósticos y por género

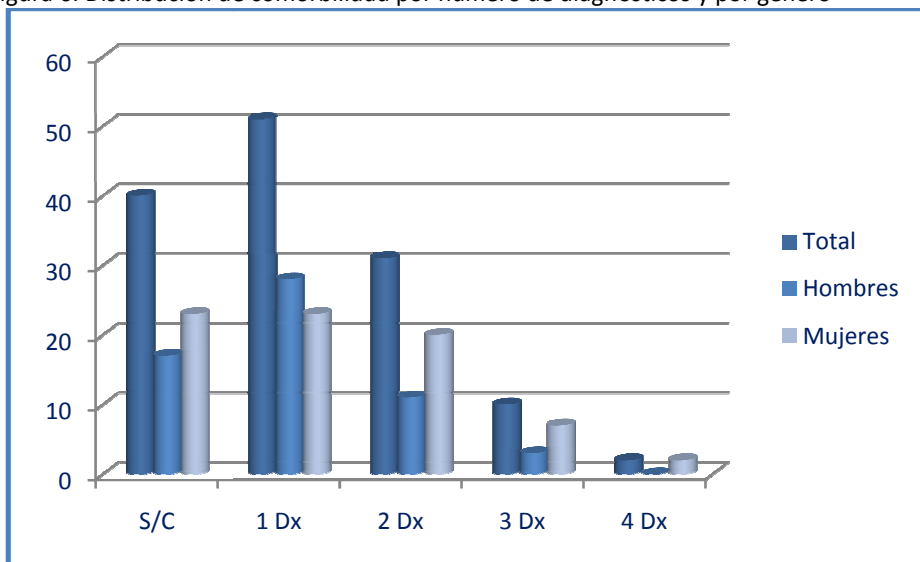


Tabla VIII. Comorbilidad en pacientes con TOC

Variables	Total	Hombres	Mujeres
N	134	59	75
(%)		(44.03)	(55.97)
TEOC	36 (27.1)	14 (23.7)	22 (29.3)
Trastornos de ansiedad	31 (23.3)	12 (18.6)	20 (26.7)
Trastornos afectivos	64 (47.8)	23 (37.3)	41 (54.7)
Síntomas psicóticos*	6 (4.5)	4 (6.8)	2 (2.7)
Otros	13 (9.8)	6 (10.2)	7 (10.7)

*Se excluyeron pacientes con trastornos psicóticos crónicos. TEOC, trastornos del espectro obsesivo-compulsivo.

En consonancia con los estudios más recientes, con la hipótesis de que la heterogeneidad del TOC dificulta los hallazgos, y con los estudios de análisis factorial, realizamos algunos análisis a partir de la clasificación de los pacientes teniendo como base su síntoma principal. Así, clasificamos a los pacientes en grupos de acuerdo al síntoma principal registrado en la subescala de verificación de

síntomas obsesivo-compulsivos de la escala de Yale-Brown. Para esto utilizamos la propuesta de Mataix-Cols *et al*,¹³ quien reportó cinco factores que explicaban el 63.29% de la varianza en el TOC:

- Factor 1: obsesiones de simetría y compulsiones de ordenar, contar y repetir.
- Factor 2: obsesiones religiosas, sexuales y somáticas.
- Factor 3: obsesiones de agresión y compulsiones de revisión.
- Factor 4: obsesiones de contaminación y compulsiones de limpieza.
- Factor 5: obsesiones y compulsiones de atesorar.

En nuestra muestra, los síntomas más frecuentes fueron las obsesiones de tipo agresivo y compulsiones de revisión, presentándose en el 33.57% de los casos como síntoma principal; en las mujeres también fue el subtipo de síntomas más frecuentes, pero en hombres fue superado por las obsesiones de tipo religioso, sexual y somático (34.92%).

En la figura 7 se muestra la distribución por subtipo de síntomas en la muestra total de pacientes con TOC; en la figura 8 se muestra la distribución de los síntomas en la muestra total y por género.

Figura 7. Distribución de síntomas obsesivo-compulsivos en muestra total de pacientes con TOC.

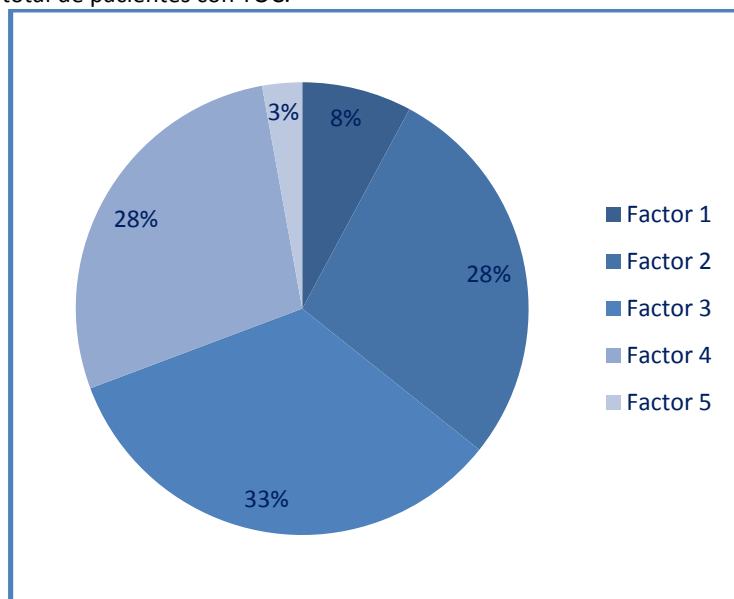
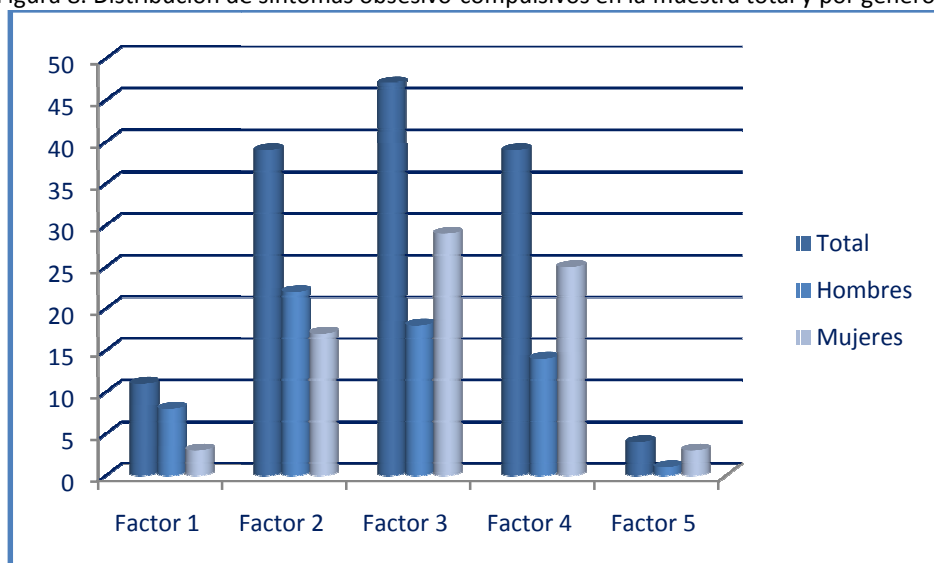


Figura 8. Distribución de síntomas obsesivo-compulsivos en la muestra total y por género



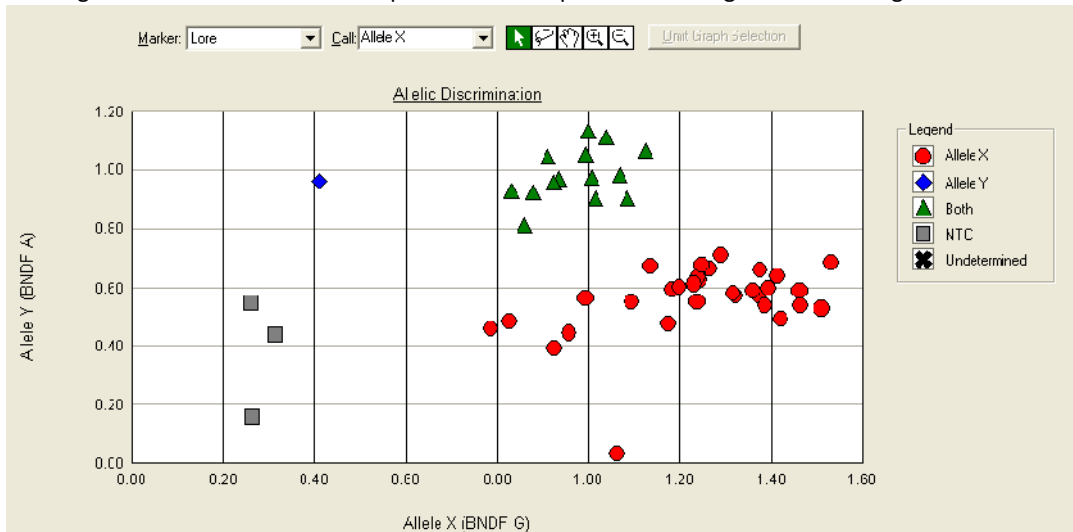
ANÁLISIS GENÉTICO

ESTANDARIZACIÓN DE LAS METODOLOGÍAS Y ANÁLISIS DE LAS REGIONES DEL GEN BDNF

Como se mencionó, el análisis de las tres regiones del gen BDNF se obtuvo por medio del método de discriminación alélica con sondas TaqMan, utilizando el software de detección de secuencias 7500 System SDS Software. Para la región rs6265, ubicada en el exón 9 del gen, se genotipificó un total de 727 sujetos (259 probandos, 283 sujetos control y 185 familiares en primer grado de los probandos).

En la figura 9 se muestra una gráfica del análisis de distribución alélica de esta región en la muestra analizada, en la que se pueden observar representado por rombos los sujetos homocigotos para el alelo A (alelo Y; Met/Met), como triángulos se observan los sujetos heterocigotos (ambos alelos; Val/Met) y por último, como un círculo se representa a los sujetos homocigotos para el alelo G (alelo X; Val/Val).

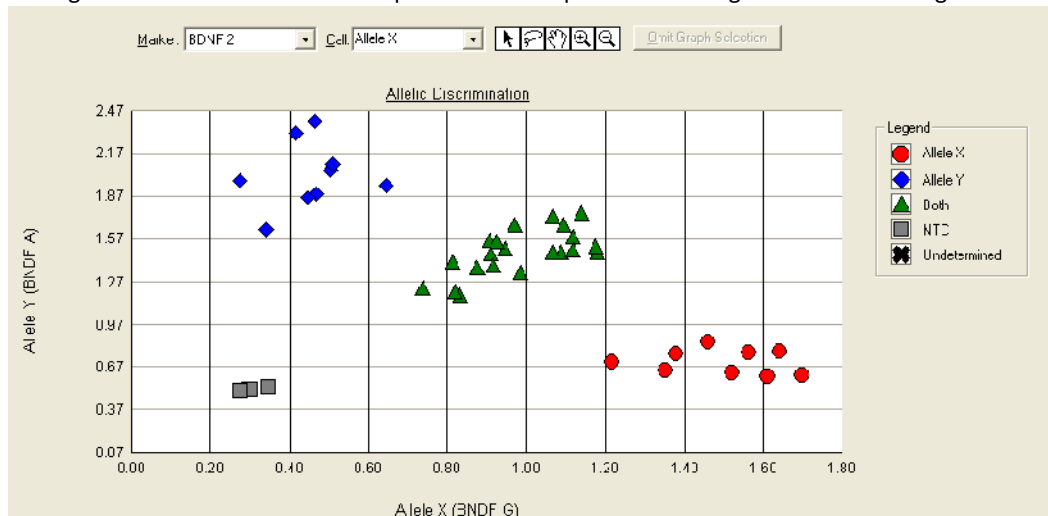
Figura 9. Discriminación alélica por PCR en tiempo real del la región rs6265 del gen BDNF.



Para la región rs1519480, ubicada en el UTR 3' del gen, se genotipificó a 716 sujetos (248 probandos, 283 sujetos control y 185 familiares en primer grado de los probandos).

En la figura 10 se muestra un ejemplo del análisis de distribución alélica de esta región en nuestra muestra. Representado por rombos se observan los sujetos homocigotos para el alelo A (alelo Y; AA), como triángulos se observan los sujetos heterocigotos (ambos alelos; AG) y por último, como círculos, se representan a los homocigotos para el alelo G (alelo X; GG).

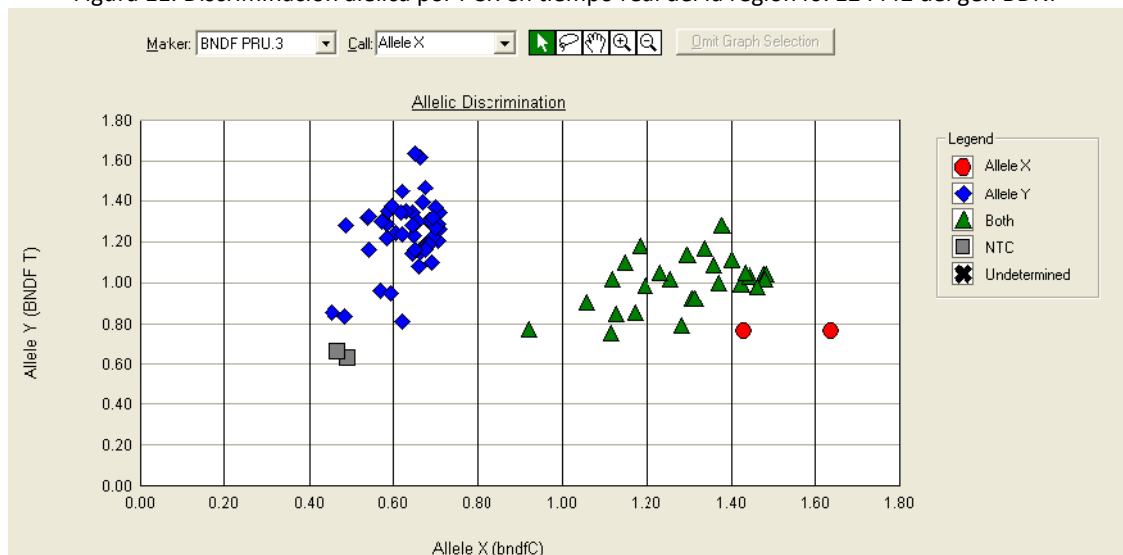
Figura 10. Discriminación alélica por PCR en tiempo real del la región rs1519480 del gen BDNF



Por último, la genotipificación de la región rs7124442, también ubicada en la UTR 3' del gen, se realizó en un total de 721 sujetos (253 probandos, 283 sujetos control y 185 familiares en primer grado de los probandos).

En la figura 11 se presenta un ejemplo del análisis realizado en el presente estudio con esta región. En este caso, el polimorfismo consiste en un cambio de una T por una C dentro de la secuencia del gen; representado por rombos se observan los sujetos homocigotos para el alelo T (alelo Y; TT), como triángulos se observan los sujetos heterocigotos (ambos alelos; TC) y por último, como círculos se representa a los homocigotos para el alelo C (alelo X; CC).

Figura 11. Discriminación alélica por PCR en tiempo real del la región rs7124442 del gen BDNF



FRECUENCIAS DE GENOTIPOS Y ALELOS EN CASOS Y CONTROLES

Análisis del rs6265

El análisis del rs6265 mostró diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con TOC y los sujetos control, corregido por Bonferroni con una $p < 0.016$ (Tabla IX). Del mismo modo, el análisis entre pacientes con TOC y controles hombres y entre el grupo de las mujeres con TOC y

controles, demostró asociación estadísticamente significativas. Sin embargo, el análisis en pacientes TOC por género no mostró asociación con el polimorfismo Val66Met (Tabla IX).

Tabla IX. Frecuencias de genotipos y alelos por género del rs6265 del gen BDNF en pacientes TOC y controles

rs6265	TOC			Controles		
	Total	Hombres	Mujeres	Total	Hombres	Mujeres
N	259	128	131	283	145	138
GG	201 (0.77)	99 (0.77)	102 (0.78)	162 (0.57)	79 (0.54)	83 (0.60)
GA	51 (0.20)	24 (0.19)	27 (0.20)	99 (0.35)	54 (0.37)	45 (0.33)
AA	7 (0.03)	5 (0.04)	2 (0.02)	22 (0.08)	12 (0.08)	10 (0.07)
G	453 (0.87)	222 (0.87)	231 (0.88)	423 (0.75)	212 (0.73)	211 (0.76)
A	65 (0.13)	34 (0.13)	31 (0.12)	143 (0.25)	78 (0.27)	65 (0.24)

Casos vs Controles: Genotipo $\chi^2=26.59$, gl=2, **p=0.0000**

Alelos $\chi^2=28.52$, gl=1, **p=0.0000**

TOC hombres vs TOC mujeres: Genotipos $\chi^2=1.48$, gl=2, p=0.5183

Alelos $\chi^2=0.28$, gl=1, p=0.6026

TOC hombres vs Controles hombres: Genotipos $\chi^2=15.67$, gl=2, **p=0.0007**

Alelos $\chi^2=15.46$, gl=1, **p=0.0003**

TOC mujeres vs Controles mujeres: Genotipos $\chi^2=11.85$, gl=2, **p=0.0032**

Alelos $\chi^2=12.87$, gl=1, **p=0.0006**

Con respecto a este polimorfismo se ha reportado que el alelo A (Met) se encuentra asociado con una actividad diferencial de la proteína, por lo que la muestra fue dividida entre portadores del alelo Met66 o A (genotipos AA y AG) y no portadores de Met 66 (genotipo GG o Val/Val). En la tabla X se presentan los resultados del análisis.

Tabla X. Frecuencias de genotipos de portadores Met y no portadores Met en casos y controles por género

	No portadores Met (Val/Val)	Portadores Met	χ^2	p
Pacientes TOC	201 (0.78)	58 (0.22)	25.35	0.0000
Controles	162 (0.57)	121 (0.43)		
Pacientes masc.	99 (0.77)	29 (0.23)	15.66	0.0002
Controles masc.	79 (0.54)	66 (0.46)		
Pacientes fem.	102 (0.78)	29 (0.22)	9.82	0.0022
Controles fem.	83 (0.60)	55 (0.40)		
Pacientes masc.	99 (0.77)	29 (0.23)	0.01	0.917
Pacientes fem.	102 (0.78)	29 (0.22)		

Análisis del rs1519480

El análisis del rs1519480 mostró diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con TOC y controles sanos por una mayor frecuencia del genotipo GG y alelo G en los casos que en los controles ($p=0.0001$ y $p=0.0000$, respectivamente); tras la corrección por Bonferroni, se estableció el nivel de significancia con una $p<0.016$ (Tabla XI). Del mismo modo, el análisis entre pacientes TOC y controles hombres y entre el grupo de las mujeres TOC y controles, demostró asociación estadísticamente significativas. Nuevamente, el análisis en pacientes TOC por género no mostró asociación con el genotipo alguno.

Tabla XI. Frecuencias de genotipos y alelos por género del rs1519480 del gen BDNF en pacientes TOC y controles

rs1519480	TOC			Controles		
	Total	Hombres	Mujeres	Total	Hombres	Mujeres
N	249	122	127	283	145	138
GG	92 (0.37)	48 (0.39)	44 (0.35)	162 (0.57)	83 (0.57)	79 (0.57)
GA	113 (0.45)	53 (0.43)	60 (0.47)	96 (0.34)	51 (0.35)	45 (0.33)
AA	44 (0.18)	21 (0.17)	23 (0.18)	25 (0.09)	11 (0.08)	14 (0.10)
G	297 (0.60)	149 (0.61)	148 (0.58)	420 (0.74)	217 (0.75)	203 (0.74)
A	201 (0.40)	95 (0.39)	106 (0.42)	146 (0.26)	73 (0.25)	73 (0.26)

Casos vs Controles: Genotipo $\chi^2=23.83$, $gl=2$, **$p=0.0001$**

Alelos $\chi^2=25.58$, $gl=1$, **$p=0.0000$**

TOC hombres vs TOC mujeres: Genotipos $\chi^2=0.59$, $gl=2$, $p=0.7460$

Alelos $\chi^2=0.40$, $gl=1$, $p=0.5321$

TOC hombres vs Controles hombres: Genotipos $\chi^2=10.61$, $gl=2$, **$p=0.0054$**

Alelos $\chi^2=11.64$, $gl=1$, **$p=0.0010$**

TOC mujeres vs Controles mujeres: Genotipos $\chi^2=13.86$, $gl=2$, **$p=0.0014$**

Alelos $\chi^2=13.81$, $gl=1$, **$p=0.0005$**

Análisis del rs7124442

El análisis del rs7124442 no mostró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes con TOC y el grupo control, entre pacientes con TOC y controles hombres, entre el grupo de las mujeres TOC y controles del mismo género, ni entre pacientes con TOC por género (Tabla XII).

Tabla XII. Frecuencias de genotipos y alelos por género del rs7124442 del gen BDNF en pacientes TOC y controles

rs7124442	TOC			Controles		
	Total	Hombres	Mujeres	Total	Hombres	Mujeres
N	254	126	128	283	145	138
TT	150 (0.59)	81 (0.64)	69 (0.54)	172 (0.61)	83 (0.57)	89 (0.64)
CT	88 (0.35)	38 (0.30)	50 (0.39)	81 (0.29)	39 (0.27)	42 (0.30)
CC	16 (0.06)	7 (0.06)	9 (0.07)	30 (0.11)	23 (0.16)	7 (0.05)
T	388 (0.76)	200 (0.79)	188 (0.73)	425 (0.75)	205 (0.71)	220 (0.80)
C	120 (0.24)	52 (0.21)	68 (0.27)	141 (0.25)	85 (0.29)	56 (0.20)

Casos vs Controles: Genotipo $\chi^2=4.5$, gl=2, p=0.1037

Alelos $\chi^2=0.242$, gl=1, p=0.6288

TOC hombres vs TOC mujeres: Genotipos $\chi^2=2.83$, gl=2, p=0.2419

Alelos $\chi^2=2.47$, gl=1, p=0.1120

TOC hombres vs Controles hombres: Genotipos $\chi^2=7.27$, gl=2, p=0.0259

Alelos $\chi^2=5.37$, gl=1, p=0.0195

TOC mujeres vs Controles mujeres: Genotipos $\chi^2=3.11$, gl=2, p=0.2103

Alelos $\chi^2=2.92$, gl=1, p=0.0836

Puede apreciarse que tanto para la región rs6265 (polimorfismo Val66Met) como para la región rs1519480 la frecuencia del genotipo GG fue significativamente mayor entre los casos de pacientes con TOC que en los controles ($p=0.0000$ y $p=0.0001$, respectivamente), diferencia que se mantuvo al hacer la comparación por género aún tras la corrección de Bonferroni para pruebas múltiples (hombres $p=0.0007$ y $p=0.0054$; mujeres $p=0.0032$ y $p=0.0014$ respectivamente).

La frecuencia del alelo G fue de la misma manera mayor para los pacientes con TOC en las regiones rs6265 y rs1519480, encontrándose una $p=0.0000$ en ambas regiones al evaluar la frecuencia del alelo G de todos los casos con todos los controles, en hombres $p=0.0003$ y $p=0.0010$, y en mujeres $p=0.0006$ y $p=0.0005$, respectivamente. La frecuencia observada entre los genotipos y los alelos de mujeres afectadas con hombres afectados no fue significativa.

En el caso de la región rs7124442 no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las comparaciones.

El análisis del poder de la muestra fue del 96% ($\alpha=0.05$) para la muestra estudiada con un OR=2.0, bajo un modelo de herencia aditivo y con una prevalencia de la enfermedad en población mexicana del 2.5%.

ANÁLISIS DE LAS REGIONES DEL BDNF Y LAS VARIABLES CLÍNICAS ESTUDIADAS EN LOS PACIENTES CON TOC

Edad de inicio

El análisis se realizó considerando el punto de corte a los 20 años de edad como se mencionó previamente. No encontramos diferencias significativas entre inicio temprano e inicio tardío de los síntomas obsesivo-compulsivos en ninguna de las regiones analizadas. En la tabla XIII se muestran las frecuencias por genotipo y por alelo en cada una de las tres regiones para el grupo con inicio de síntomas temprano y los pacientes de inicio de síntomas tardío.

Tabla XIII. Genotipos de las tres regiones analizadas en pacientes con edad de inicio temprana y edad de inicio tardía

rs6265		rs151940		rs7124442	
Inicio temprano (72)	Inicio tardío (65)	Inicio temprano (67)	Inicio tardío (59)	Inicio temprano (67)	Inicio tardío (62)
GG 59 (0.82)	46 (0.71)	GG 19 (0.28)	20 (0.34)	TT 44 (0.66)	34 (0.55)
GA 11 (0.15)	19 (0.29)	GA 34 (0.51)	28 (0.47)	CT 20 (0.30)	23 (0.37)
AA 2 (0.03)	0 (0.0)	AA 14 (0.21)	11 (0.19)	CC 3 (0.04)	5 (0.08)
G 129 (0.90)	111 (0.85)	G 72 (0.54)	68 (0.58)	T 108 (0.81)	91 (0.73)
A 15 (0.10)	19 (0.15)	A 62 (0.46)	50 (0.42)	C 26 (0.19)	33 (0.27)

Al realizar el análisis de los genotipos por género, se encontró una tendencia hacia la significancia tras la corrección por Bonferroni, para la región rs1519480 con edad de inicio temprana ($\chi^2=6.42$, $p=0.0395$).

Subtipo de síntomas

Se obtuvo la información de los subtipos de síntomas en 143 pacientes con TOC, los cuales fueron agrupados con base en los cinco factores propuestos por Mataix-Cols *et al.*¹³ A continuación se presenta la tabla que contiene la frecuencia de los genotipos, así como de los alelos encontrados en la muestra de acuerdo al subtipo de síntomas y por género.

Tabla XIV. Frecuencias de genotipos y alelos de las regiones analizadas por género y subtipo de síntomas

	Hombres					Mujeres				
rs6265										
	GG	GA	AA	G	A	GG	GA	AA	G	A
Factor 1	7 (0.88)	1 (0.13)	0 (0.0)	15 (0.94)	1 (0.06)	2 (0.67)	1 (0.33)	0 (0.0)	5 (0.83)	1 (0.17)
Factor 2	17 (0.77)	5 (0.23)	0 (0.0)	39 (0.89)	5 (0.11)	14 (0.82)	3 (0.18)	0 (0.0)	31 (0.91)	3 (0.09)
Factor 3	14 (0.78)	4 (0.22)	0 (0.0)	32 (0.89)	4 (0.11)	21 (0.72)	8 (0.28)	0 (0.0)	50 (0.86)	8 (0.14)
Factor 4	15 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	30 (1.0)	0 (0.0)	15 (0.60)	8 (0.32)	2 (0.08)	38 (0.76)	12 (0.24)
Factor 5	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	3 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (1.0)	0 (0.0)
rs1519480										
	GG	GA	AA	G	A	GG	GA	AA	G	A
Factor 1	3 (0.42)	2 (0.29)	2 (0.29)	8 (0.57)	6 (0.43)	0 (0.0)	3 (1.0)	0 (0.0)	3 (5.0)	3 (5.0)
Factor 2	5 (0.24)	13 (0.62)	3 (0.14)	23 (0.55)	19 (0.45)	5 (0.31)	8 (0.50)	3 (0.19)	18 (0.56)	14 (0.44)
Factor 3	7 (0.47)	6 (0.40)	2 (0.13)	20 (0.67)	10 (0.33)	5 (0.23)	11 (0.42)	9 (0.35)	23 (0.44)	29 (0.56)
Factor 4	5 (0.38)	8 (0.62)	0 (0.0)	18 (0.69)	8 (0.31)	8 (0.33)	10 (0.42)	6 (0.25)	26 (0.54)	22 (0.46)
Factor 5	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	3 (1.0)	0 (0.0)	3 (5.0)	3 (5.0)
rs7124442										
	TT	CT	CC	T	C	TT	CT	CC	T	C
Factor 1	3 (0.38)	4 (0.50)	1 (0.13)	10 (0.63)	6 (.38)	1 (0.33)	1 (0.33)	1 (0.33)	3 (5.0)	3 (5.0)
Factor 2	15 (0.71)	6 (0.29)	0 (0.0)	36 (0.86)	6 (0.14)	8 (0.50)	6 (0.38)	2 (0.13)	22 (0.69)	10 (0.31)
Factor 3	11 (0.65)	5 (0.29)	1 (0.06)	27 (0.79)	7 (0.21)	16 (0.62)	7 (0.27)	3 (0.12)	39 (0.75)	13 (0.25)
Factor 4	10 (0.77)	3 (0.23)	0 (0.0)	23 (0.88)	3 (0.12)	13 (0.54)	11 (0.46)	0 (0.0)	37 (0.77)	11 (0.23)
Factor 5	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.33)	2 (0.67)	0 (0.0)	4 (0.67)	2 (0.33)

Factor 1: simetría, orden, repetir, contar; Factor 2: sexuales, religiosas, somáticas; Factor 3: agresión, revisar; Factor 4: contaminación, limpieza; Factor 5: atesorar.

No se encontró una asociación clara entre algún alelo o genotipo y los subtipos de síntomas. La única asociación estadísticamente significativa tras la corrección de Bonferroni se encontró para el factor de obsesiones de contaminación y compulsiones de limpieza en la región rs6265 al comparar la frecuencia observada por alelos entre hombres y mujeres ($\chi^2=6.69$, $p=0.0096$), así como una tendencia en el análisis por genotipo para este mismo factor ($\chi^2=8.0$, $p=0.0182$).

Gravedad de los síntomas

El análisis de asociación entre genotipos y alelos y la gravedad de los síntomas se realizó por medio de ANOVA's, utilizando la puntuación total en la subescala de gravedad de Yale-Brown y por la puntuación de la subescala de obsesiones y subescala de compulsiones de este mismo instrumento. En el análisis del rs6265, se dividió a la muestra entre portadores del alelo A (Met) comparado con los no portadores del alelo A. Del mismo modo, el análisis de los rs1519480 y rs7124442 fue llevado a cabo agrupando a los pacientes con base en la portación de las dos variantes genéticas para cada una de las regiones. El procedimiento anterior fue realizado de esta forma debido a que hasta la fecha no existen reportes que sugieran alelos de riesgo para el desarrollo del TOC para estas regiones.

De esta manera, el análisis estadístico no mostró diferencias estadísticamente significativas en la comparación general entre casos y controles, ni en la comparación por género entre casos y controles con ninguna de las tres regiones analizadas (Tablas XV, XVI y XVII).

Tabla XV. Análisis por ANOVA entre la portación de alelos y puntuación total en Y-BOCS por región y género

	Grupo	Total			Hombres			Mujeres		
		Promedio	DE	p	Promedio	DE	p	Promedio	DE	p
rs6265	GG	25.77	7.52	0.65	26.44	6.71	0.98	25.24	8.24	0.55
	GA+AA	26.44	6.59		26.40	6.38		26.45	6.84	
rs1519480	GG	25.15	8.53	0.55	26.75	5.78	0.81	23.47	9.26	0.27
	GA+AA	25.99	6.58		26.32	5.78		25.76	7.13	
	GG+GA	25.20	7.25	0.08	26.24	6.47	0.51	24.25	7.84	0.08
	AA	27.92	6.62		27.88	6.36		27.94	6.92	
rs7124442	TT	25.66	6.92	0.83	26.68	6.83	0.74	24.59	6.93	0.50
	CT+CC	25.93	7.50		26.10	5.23		25.82	8.64	
	TT+CT	25.89	7.02	0.44	26.85	6.38	0.71	25.42	7.57	0.35
	CC	23.88	8.98		28.50	4.95		22.33	9.83	

DE, desviación estándar.

Tabla XVI. Análisis por ANOVA entre la portación de alelos y puntuación en subescala de obsesiones de Y-BOCS por región y género

	Grupo	Total			Hombres			Mujeres		
		Promedio	DE	p	Promedio	DE	p	Promedio	DE	p
rs6265	GG	12.38	4.65	0.16	13.41	3.40	0.81	13.04	4.12	0.57
	GA+AA	13.63	3.38		13.70	4.03		13.59	3.14	
rs1519480	GG	13.53	3.99	0.57	14.00	3.31	0.46	13.00	3.43	1.0
	GA+AA	13.13	3.39		13.32	3.38		13.00	4.68	
	GG+GA	13.06	3.65	0.23	13.52	3.32	0.86	12.63	3.91	0.15
	AA	14.00	3.19		13.75	3.69		14.11	3.05	
rs7124442	TT	13.47	3.34	0.39	13.66	3.55	0.69	13.26	3.12	0.53
	CT+CC	12.93	3.81		13.30	2.66		12.71	4.37	
	TT+CT	13.26	3.52	0.84	13.54	3.31	0.99	13.02	3.69	0.91
	CC	13.00	4.04		13.50	2.12		12.83	4.67	

DE, desviación estándar.

Tabla XVII. Análisis por ANOVA entre la portación de alelos y puntuación en subescala de compulsiones de Y-BOCS por región y género

	Grupo	Total			Hombres			Mujeres		
		Promedio	DE	p	Promedio	DE	p	Promedio	DE	p
rs6265	GG	12.38	4.65	0.59	13.02	3.9	0.93	11.75	5.24	0.39
	GA+AA	12.88	4.53		12.90	3.57		12.86	4.50	
rs1519480	GG	13.53	3.99	0.57	12.75	5.03	0.79	10.44	6.27	0.16
	GA+AA	13.13	3.39		13.03	3.04		12.41	4.72	
	GG+GA	11.66	5.70	0.26	12.74	3.90	0.34	11.28	5.38	0.07
	AA	12.66	4.10		14.13	3.09		13.83	4.03	
rs7124442	TT	12.23	4.78	0.61	13.05	3.99	0.81	11.34	4.88	0.32
	CT+CC	12.65	4.34		12.80	3.32		12.56	5.42	
	TT+CT	12.50	4.47	0.33	12.90	3.78	0.44	12.14	5.0	0.23
	CC	10.88	6.42		15.00	2.83		9.50	6.86	

DE, desviación estándar.

ANÁLISIS POR HAPLOTIPOS EN CASOS Y CONTROLES

Se realizó un análisis por haplotipos con 283 sujetos control y 253 pacientes con TOC, de los cuales se contó con información clínica de 131 paciente (51.8%). Los haplotipos estuvieron conformados por las tres regiones analizadas, es decir rs6265/rs1519480/rs7124442. El análisis estadístico fue realizado mediante el programa THESIAS,⁷⁵ el cual mostró que las tres regiones se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$).

En la tabla XVIII se presentan los resultados del análisis por haplotipos entre casos y controles. El haplotipo más frecuente en la muestra estudiada, fue el denominado GGT (alelo G en la región

rs6265, alelo G en la región rs1519480 y alelo T en la región rs7124442), por lo que fue empleado como referencia para el cálculo del riesgo de los haplotipos expresados en población mexicana.

Se encontró un haplotipo de protección el AGT para el desarrollo del TOC, ya que como se muestra en la tabla XVIII se encuentra presente con mayor frecuencia en el grupo control (0.142) que en el grupo con TOC (0.003). Además, se encontró que el haplotipo AAT podría representar un haplotipo de riesgo casi tres veces mayor para el desarrollo de TOC, comparado con el grupo de controles (OR=2.8 [1.43-5.38], p=0.002).

Tabla XVIII. Análisis por haplotipos de las variantes del gen BDNF en pacientes con TOC y sujetos controles utilizando el programa THESIAS

Haplotipos			Frecuencias		Odds ratio	Valor
rs6265	rs1519480	rs7124442	Controles (283)	Casos (253)	[95%, CI]	p
G	G	T	0.411	0.432	Referencia*	
G	G	C	0.142	0.143	1.04 [0.69-1.57]	0.847
G	A	T	0.157	0.221	1.38 [0.96-1.99]	0.0857
G	A	C	0.037	0.063	1.92 [0.86-4.25]	0.1087
A	G	T	0.143	0.003	0.02 [0.002-0.17]	0.00041
A	G	C	0.046	0.012	-----	
A	A	T	0.040	0.105	2.78 [1.43-5.44]	0.00245
A	A	C	0.024	0.021	-----	

*El haplotipo más frecuente.

Resulta interesante que la única diferencia entre el haplotipo de protección y el de riesgo es la presencia del alelo A para el de protección y el alelo G para el de riesgo en la segunda región (rs1519480).

El análisis de haplotipos con las variables clínicas edad de inicio, gravedad de síntomas obsesivo-compulsivos (puntuación total, puntuación en subescala de obsesiones y puntuación en subescala de compulsiones), así como el análisis por género, no demostró ninguna asociación estadísticamente significativa. Los resultados se presentan en la tabla XIX.

Tabla XIX. Análisis de variables clínicas por haplotipos en pacientes con TOC

Haplotipo	Género		Edad de inicio		Y-BOCS-total		YBPCS-obsesiones		Y-BOCS-compulsiones	
	Odds ratio [IC 95%]	<i>p</i>	Odds ratio [IC 95%]	<i>p</i>	Odds ratio [IC 95%]	<i>p</i>	Odds ratio [IC 95%]	<i>p</i>	Odds ratio [IC 95%]	<i>p</i>
GGT	Referencia									
GGC	0.49 [0.26-0.95]	0.04	0.048 [-4.62-4.71]	0.98	-0.20 [-2.90-2.51]	0.89	-0.06 [-1.53-1.41]	0.94	0.40 [-1.34-2.14]	0.65
GAT	0.75 [0.44-1.27]	0.28	-0.82 [-4.36-2.72]	0.65	0.99 [-1.88-3.86]	0.50	0.41 [-1.07-1.88]	0.59	1.04 [-0.70-2.78]	0.24
GAC	0.70 [0.25-1.95]	0.49	-1.20 [-7.55-5.15]	0.71	1.49 [-2.19-5.18]	0.43	-0.53 [-2.87-1.82]	0.66	1.58 [-1.00-4.16]	0.23
AGT	0.00		0.00		0.00		0.00			
AAT	0.78 [0.4-1.5]	0.46	-0.13 [-4.52-4.27]	-0.056	1.50 [-2.09-5.1]	0.41	0.79 [-1.26-2.85]	0.45	1.55 [-0.56-3.66]	0.15
AAC	1.21 [0.35-4.22]	0.76	4.85 [-4.51-14.22]	0.31	-7.58 [-15.43-0.28]	0.06	0.46 [-3.34-4.27]	0.81	-10.91 [-26.32-4.5]	0.17

TOC, Trastorno obsesivo-compulsivo; IC, intervalo de confianza.

ESTUDIO DE ASOCIACIÓN BASADO EN FAMILIAS

En el análisis de asociación basado en familias se incluyó a 109 pedigreos (294 personas) y los tres marcadores (rs6265, rs1519480 y rs7124442). El análisis mediante el programa FBAT no mostró la transmisión de algún alelo particular para cada una de las tres regiones analizadas (Tabla XX).

Tabla XX. Análisis por FBAT de la transmisión alélica de las 109 familias con TOC

Región	Alelo	Frecuencia alélica	Número de familias	S	E(S)	Var(S)	Z	p
rs6265	G	0.823	34	54.000	48.000	11.500	1.769	0.0768
	A	0.177	34	18.000	24.000	11.500	-1.769	0.0768
rs1519480	G	0.564	49	60.000	52.000	18.500	1.860	0.0629
	A	0.464	49	46.000	54.000	18.500	-1.860	0.0629
rs7124442	T	0.809	35	50.000	47.500	10.250	0.781	0.4349
	C	0.191	35	20.000	22.500	10.250	-0.781	0.4349

Finalmente, el análisis cuantitativo por regiones y por haplotipos de las variables clínicas no pudo ser realizado debido a que no se tuvieron suficientes familias informativas para llevarlo a cabo.

PARTE IV

DISCUSIÓN

El estudio de la genética del Trastorno obsesivo compulsivo ha sido explorado en población mexicana desde hace varios años, encontrando hasta la fecha diversos hallazgos con varios genes candidatos. El presente estudio constituye el de mayor tamaño de muestra que se ha realizado en nuestra población y uno de los tres estudios de asociación más grandes realizados entre el gen BDNF y el TOC.

Los datos demográficos de nuestra muestra no difieren de lo reportado en la literatura científica sobre pacientes con TOC. Encontramos que los síntomas obsesivo-compulsivos inician significativamente de forma más temprana en los pacientes de género masculino (17.40 ± 8.28 años) que en los de género femenino (23.05 ± 9.94 años). Como se mencionó, el punto de corte para definir a los pacientes con inicio temprano e inicio tardío del TOC fue a los 20 años de edad, que corresponde a la edad promedio de la muestra total; en este estudio no encontramos diferencias entre ambos grupos, como ocurrió en otro estudio.³ La diferencia de edad entre los sujetos control y los pacientes con TOC resultó estadísticamente significativa ya que la edad promedio del grupo control (46.28 años) es mayor a la del grupo de casos y es superior a la edad en que el 99.3% de los pacientes con TOC inició con la sintomatología.

La puntuación promedio en la gravedad de los síntomas obsesivo-compulsivos de nuestra muestra fue mayor a la reportada en otros estudios de asociación con el gen BDNF,^{45,46,47,49} lo cual podría deberse al hecho de que en la mayoría de los casos, la evaluación clínica y la extracción de DNA a partir de sangre periférica ocurrió en las primeras ocho semanas de su tratamiento. No obtuvimos

diferencias significativas cuando se buscó asociación entre las distintas variables y la gravedad de los síntomas en ninguno de los grupos analizados.

Los pacientes de nuestra muestra presentaron comorbilidad con al menos un diagnóstico psiquiátrico en el 69.4% de los casos, siendo el más frecuente el de tipo afectivo (47.8%), de acuerdo a lo publicado en otros estudios.^{6,18,21} En segundo lugar identificamos los trastornos del espectro obsesivo-compulsivo, encontrados en un 27.1% de la muestra total (23.7% de los hombres y 29.3% de las mujeres); estos trastornos, cuando se buscan de forma propositiva en pacientes con TOC es frecuente identificarlos, lo que se vio reflejado en nuestra muestra y resalta la importancia de que formen parte de la evaluación clínica de los pacientes con TOC.

Por otro lado, la comorbilidad con los Trastornos de ansiedad se identificó en 23.3% de los pacientes (18.6% de hombres y 26.7% de mujeres). Nuestros resultados, al igual que reportes previos,^{76,77} apoyan la hipótesis de que el TOC no pertenece a los Trastornos de ansiedad y apoya la existencia de un espectro obsesivo-compulsivo, contrario a lo reportado por Bienvenu *et al*⁷⁸ y Nestadt *et al*.⁷⁹

Como se mencionó en los resultados, fueron excluidos los pacientes con diagnóstico primario de TOC que tuvieran comorbilidad con algún trastornos psicótico crónico, es decir, aquellos que presentaran el fenómeno esquizo-obsesivo, de acuerdo a los criterios de Lóyzaga *et al*;⁸⁰ sin embargo, sí se incluyó a seis pacientes con diagnóstico de TOC (4.5%) que presentaron síntomas psicóticos sin ser consecuencia de un trastorno psicótico crónico, ya que se observó que derivaron de la obsesión que evolucionó a la pérdida del *insight* y alcanzó con esto una cualidad delirante.

La historia familiar de TOC y TEOC (incluidos los trastorno por tics), no fue analizada debido a la baja frecuencia encontrada en nuestra muestra. Cabe mencionar que para la realización de este estudio, sólo se consideró positivo el antecedente de historia familiar de TOC o TEOC cuando el probando refirió con certeza el diagnóstico en algún familiar de primer grado con la intención de que pudiéramos evaluar si realmente había una asociación con esta variable. En los casos en los que el paciente refería datos altamente sugestivos de síntomas obsesivo-compulsivos o del espectro no fueron considerados para el análisis, lo que puede explicar la diferencia en la prevalencia de historia familiar positiva reportada en otro estudio.⁴⁸

La distribución de los síntomas obsesivo-compulsivos en los pacientes de la muestra fue similar a la reportada en otros estudios de análisis factorial en TOC.^{9,13} Los síntomas más frecuentes fueron las obsesiones de agresión con compulsiones de revisión, seguido por las obsesiones de tipo religioso, sexual y somático, y por las obsesiones de contaminación y compulsiones de limpieza. Cabe mencionar que en los casos en los que el síntoma principal no pertenecía a alguna de estas dimensiones sintomáticas, se utilizó el siguiente síntomas más intenso que el paciente presentara para clasificarlo en alguno de los factores del modelo utilizado, el cual es una modificación al propuesto por Mataix-Cols *et al*¹³ ya que en un estudio realizado previamente en la Clínica de TOC y TEOC de este Instituto⁹ se encontró que este modelo es adecuado para la clasificación de los síntomas en nuestros pacientes.

Hall *et al*⁴⁴ encontraron una asociación entre el polimorfismo Val66Met de la región rs6265 del gen BDNF y el TOC; en su estudio reportan que el alelo Met es poco transmitido, sugiriendo y asociado también con un efecto protector para el inicio de los síntomas. Desde que fue descrita esta

asociación se ha intentado replicar estos resultados y por lo menos hay ocho estudios publicados con resultados negativos;^{45,46,47,48,49,50,51,52} sin embargo, en algunos de ellos se han obtenido resultados que sugieren que sí podría haber una asociación.

Por ejemplo, Hemmings *et al*,⁴⁶ con una muestra de 112 pacientes con TOC caucásicos africanos identificó que las mujeres portadoras de al menos un alelo Met tenían puntuaciones significativamente menores de gravedad de los síntomas que las mujeres homocigotas Val/Val; en los hombres, a diferencia de Hall *et al*,⁴⁴ encontró que los portadores de un alelo Met tenían una edad de inicio más temprana, con incremento de la probabilidad de presentar TOC con cada alelo Met adicional que presentaran, pero al no obtener un efecto significativo en mujeres, concluye que el incremento de riesgo es aparente.

Katerberg *et al*⁴⁸ incrementó la muestra estudiada por Hemmings *et al*⁴⁶ (419 pacientes en total), con lo que identificó una tendencia hacia la significancia entre el genotipo Val/Val y el factor de obsesiones sexuales y religiosas; además, las mujeres con el genotipo Met/Met tuvieron una edad de inicio estadísticamente significativa menor a la que presentaban las mujeres con genotipo Val/Val y Val/Met ($p=0.002$), y tendencia a menor gravedad de los síntomas en las mujeres portadoras de al menos un alelo Met comparado con las no portadoras.

En este último estudio se incluyeron pacientes con TOC subclínico, y ya que por sí mismo el TOC es una entidad altamente heterogénea, el incluir casos de TOC subclínico puede incrementar esta heterogeneidad, interfiriendo así con la capacidad de identificar una asociación estadísticamente significativa. No se menciona la proporción de pacientes que cumplieron los criterios diagnósticos de TOC, pero llama la atención que la puntuación promedio reportada por los autores para su muestra en la Y-BOCS es similar a la reportada en otras muestras de pacientes con diagnóstico categórico de TOC. Para conocer si el haber incluido a estos pacientes influyó en que sólo se identificaran tendencias, habría sido importante que se reportaran los resultados de esta

submuestra y si hubo o no diferencias significativas entre los pacientes con el síndrome subclínico y aquellos que cumplieron criterios para el diagnóstico categórico de TOC.

El presente estudio, apoya consistentemente una asociación entre el alelo G (alelo Val) de la región rs6265 y el TOC, de forma que apoya los hallazgos reportados por Hemmings *et al*⁴⁶ y Katerberg *et al*,⁴⁸ y de forma indirecta, lo reportado por Hall *et al*.⁴⁴

Por otro lado, nuestro estudio encuentra también asociación con el alelo G de la región rs1519480 y pacientes con TOC. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los pacientes con TOC al comparar entre hombres y mujeres, por edad de inicio temprana o tardía ni por la gravedad del trastorno.

Al realizar el análisis por subtipo de síntoma considerando el modelo de cinco factores, la única diferencia estadísticamente significativa identificada fue para la dimensión de obsesiones de contaminación y compulsiones de limpieza al comparar frecuencias de alelos entre hombres y mujeres que presentaron síntomas de este subtipo ($\chi^2=6.69$, $gl=1$, $p=0.0096$). Esta asociación parece estar dada por una mayor frecuencia del alelo G en la región rs6265 en hombres.

En cuanto a las regiones rs1519480 y rs7124442, éste es el primer estudio en analizarlas ya que los estudios de asociación entre el gen BDNF y el TOC se han concentrado en analizar el polimorfismo Val66Met principalmente, de forma que éste es el primer estudio en reportar una asociación entre el alelo G de la región rs1519480 y el TOC.

El análisis de asociación basado en familias no mostró diferencia estadísticamente significativa en la transmisión de alelos; sin embargo, los resultados parecen sugerir que el alelo G es más transmitido para las regiones rs6265 y rs1519480, pero debido a que el método utiliza únicamente a padres informativos (heterocigotos) no alcanzó la significancia estadística, por lo que deberá incrementarse el tamaño de la muestra en un estudio posterior. Los estudios de asociación basados en familiares evitan el efecto que pudiera tener una estratificación poblacional, de forma que corroborar esta asociación confirmaría los resultados obtenidos en el estudio de asociación de casos y controles.

El análisis por haplotipos mostró que en población mexicana se expresan seis diferentes haplotipos con una frecuencia mayor al 2%. Se encontró una mayor frecuencia del haplotipo AAT en pacientes TOC comparado con controles (10.5% vs 4.1%, respectivamente), incrementando casi tres veces el riesgo de desarrollar TOC (OR=2.8, IC 1.43-5.38, p=0.002). Del mismo modo, observamos una menor frecuencia del haplotipo AGT en pacientes TOC (0.3%) que en la muestra control (14.3%), lo que podría sugerir que es un haplotipo de protección para el TOC. Resulta interesante mencionar que la portación de una u otra variante del rs1519480 podría ser determinante en el riesgo o no a desarrollar el TOC.

Hall *et al*⁴⁴ realizó un análisis de haplotipos en 164 familias tipo trío utilizando la región Val66Met y seis SNP diferentes a los empleados en nuestro estudio, encontrando hallazgos similares a los nuestros; reporta la presencia de un haplotipo de protección que porta el alelo Met (alelo A) en pacientes con TOC. Sin embargo, nuestros datos no apoyan una asociación entre el haplotipo de protección y un inicio de los síntomas más tardío. Un estudio posterior no encuentra asociación entre haplotipos conformados con cinco marcadores, incluyendo el rs6265, en una muestra de pacientes con TOC comparado con controles.⁴⁷

Los hallazgos obtenidos en este estudio podrían indicar que las regiones rs6265 y rs1519480 se encuentran asociadas con el TOC, o que otra región cercana a dichas regiones podrían estar actuando en desequilibrio de enlace para el desarrollo del trastorno, ya que como se mencionó, la asociación identificada fue con el trastorno como entidad nosológica, manteniéndose al subdividir a los casos por género, pero sin que se encontraran diferencias estadísticamente significativas al comparar a los sujetos con TOC con base en sus variables demográficas y clínicas, a excepción del factor de obsesiones de contaminación y compulsiones de limpieza, que mostró estar fuertemente asociado con la portación del alelo G de Val66Met en la muestra de hombres. Lo anterior podría indicar que el alelo G podría ser un alelo de riesgo para el desarrollo de obsesiones de contaminación y compulsiones de limpieza en pacientes TOC hombres. Sin embargo, este hallazgo deberá ser comprobado en una muestra de mayor tamaño.

Resulta particularmente llamativo el hecho de que si se observa la figura 2, la región rs7124442, con la que no se identificó asociación alguna, se encuentra justamente entre las regiones rs6265 y rs1519480 y al haber desequilibrio de enlace, se transmiten juntas.

Por otra parte, se ha descrito que el alelo Met de la región rs6265 afecta el tránsito intracelular y la secreción de la molécula madura, lo que se ha relacionado en modelos animales con la presencia de conductas ansiosas que no responden a la administración de antidepresivos,⁶⁶ pero hasta el momento no se conoce una posible explicación biológica de la asociación entre la variante Val y psicopatología, aunque debemos recordar que el gen BDNF ha resultado particularmente difícil de estudiar por su complejidad, incluso varios autores reportan números de exones diferentes, de los que se conoce que sólo uno da origen a la molécula madura y algunos exones cuentan con sus propias regiones promotoras y dan origen a diversos transcritos de los que hasta el momento se desconoce con certeza su función. De esta forma, el gen BDNF constituye un gen

altamente regulado cuyos mismos transcritos parecen tener propiedades de regulación (RNA reversa, una molécula madura cuya función resulta totalmente opuesta a la de su precursor, etc.), lo cual con frecuencia se observa en los sistemas biológicos cuando nos encontramos con un producto cuya importancia es vital para la perpetuación del sistema.^{54,45,58,59,60,65}

Por último, al ser éste el primer estudio en el que se encuentra una asociación entre la región rs1519480 y el desarrollo del TOC, resulta importante replicar estos hallazgos en otras poblaciones.

Dentro de las limitaciones del presente estudio se encuentra el hecho de que la información clínica solo estuvo disponible en el 55% de los pacientes con TOC incluidos en el estudio. Los datos demográficos y clínicos provienen de registros clínicos retrospectivos, lo cual podría no parecer ideal, aunque no es importante la temporalidad de estos datos, excepto los de gravedad de los síntomas obsesivo-compulsivos, ya que independientemente del momento en que se evalúen no hay cambios en las variables analizadas en este estudio, como el género, la edad de inicio, la comorbilidad, etcétera.

Por otro lado vale la pena mencionar que estos registros clinimétricos son altamente confiables, ya que los instrumentos fueron aplicados por psiquiatras expertos en TOC y se conservan en un expediente clinimétrico individual para cada paciente, constituyendo esto una fortaleza del estudio.

Asimismo, la clasificación de los síntomas en cinco subtipos no deriva de un análisis factorial realizado para este estudio, mas se ha realizado un análisis factorial con los pacientes de la Clínica

de TOC y TEOC previamente,⁹ encontrándose que los cinco factores en los que se dividió la muestra son apropiados.

Para el estudio de asociación basado en familias sólo se contó con 109 familias, de las que menos de la mitad fueron informativas, de forma que la *n* de familias incluidas en el estudio redujo la capacidad del programa para identificar una asociación; sin embargo, los resultados obtenidos indican que un incremento de la muestra puede apoyar los resultados presentados en este estudio.

CONCLUSIONES

1. Las frecuencias de genotipos y alelos identificadas en nuestro estudio son semejantes a las reportadas previamente en sujetos de origen mexicano.
2. Los hallazgos muestran una asociación estadísticamente significativa entre el gen BDNF y el TOC; en particular, las regiones rs6265 y rs1519480 presentaron una mayor frecuencia del genotipo GG (Val/Val) y del alelo G en pacientes con TOC comparado con sujetos control.
3. Se encontró diferencia por género entre el gen BDNF y el factor de obsesiones de contaminación y compulsiones de limpieza, debido a una mayor portación del alelo G en hombres en la región rs6265 al compararse con las mujeres. Las demás variables clínicas y demográficas analizadas no mostraron diferencias estadísticamente significativas.
4. El análisis por haplotipos de las regiones rs6265/rs1519480/rs7124442 mostró la expresión de seis haplotipos en población mexicana, siendo el haplotipo más frecuente el haplotipo GGT.
5. El haplotipo AAT incrementa 2.8 veces más el riesgo de presentar TOC, encontrándosele en el 10.5% de los casos.

6. El haplotipo AGT se presenta como un probable haplotipo de protección para el desarrollo del TOC.
7. No se encontró que alguno de los haplotipos se asociara con alguna de las variables clínicas y demográficas en pacientes con TOC.
8. El análisis de asociación basado en familias no mostró diferencias estadísticamente significativas en la transmisión de un alelo en particular entre alguna de las regiones analizadas del gen BDNF y el TOC; sin embargo, los resultados sugieren una mayor transmisión del alelo G de las regiones rs6265 y rs1519480.
9. Para estudios posteriores, sería importante incrementar el número de familias incluidas en el análisis con FBAT, así como analizar la frecuencia en que se presentan las variantes de la región rs1519480 del gen BDNF en otras poblaciones.

REFERENCIAS

1. DSM-IV-TR. Breviario: Criterios diagnósticos. Editorial Masson, España, 2005. Pp 205-207.
2. Jenike MA, MD. *An update on obsessive-compulsive disorder*. Bulletin of the Menninger Clinic, 2001; 65(1): 4-25.
3. Delorme R, et al. *Admixture analysis of age at onset in obsessive-compulsive disorder*. Psychological Medicine, 2005;35:237-243.
4. Rosario-Campos MC, et al. *Adults with early-onset obsessive-compulsive disorder*. Am J Psychiatry, 2001;158:1899-1903.
5. Hemmings SM, et al. *Early- versus late-onset obsessive-compulsive disorder: investigating genetic and clinical correlates*. Psychiatry Research, 2004;128:175-182.
6. Torres AR et al. *Obsessive-compulsive disorder: Prevalence, comorbidity, impact, and help-seeking in the British National Psychiatric Morbidity Survey of 2000*. Am J Psychiatry, 2006;163:1978-1985.
7. Denys D. *Pharmacotherapy of Obsessive-Compulsive Disorder and Obsessive-Compulsive Spectrum Disorder*. Psychiatr Clin N Am, 2006;29:553-584.
8. Nicolini, H et al. *Age of onset, gender and severity in obsessive-compulsive disorder. A study on a Mexican population*. Salud Mental, 1997;20(2):1-4.
9. Vargas, LA. *Dimensión de los síntomas del trastorno obsesivo compulsivo, su relación con las dimensiones del temperamento y carácter y la respuesta a inhibidores de recaptura de serotonina*. Tesis de Especialidad (en Psiquiatría) U.N.A.M.
10. Mataix-Cols D, Rosario-Campos MC, Leckman JF. *A multidimensional model of obsessive-compulsive disorder*. Am J Psychiatry, 2005;162:228-238).
11. Baer L. *Factor analysis of symptom subtypes of obsessive compulsive disorder and their relation to personality and tic disorders*. J Clin Psychiatry, 1994;55(Suppl):18-23.
12. Leckman JF, et al. *Symptoms of obsessive-compulsive disorder*. Am J Psychiatry, 1997; 154(7):911-917.
13. Mataix-Cols D et al. *Use of factor analysed symptom dimensions to predict outcome with serotonin reuptake inhibitors and placebo in the treatment of obsessive-compulsive disorder*. Am J Psychiatry, 1999;156:1409-1416.

14. Bloch, MH, et al. *Meta-analysis of the symptom structure of obsessive-compulsive disorder*. Am J Psychiatry, 2008;165:1532-1542.
15. Stewart SE, et al. *Four-factor structure of obsessive-compulsive disorder symptom in children, adolescents and adults*. J Am Acad Child Adolesc. Psychiatry, 2008;47(7):763-772.
16. Mataix-Cols D, et al. *Symptom stability in adult obsessive-compulsive disorder: data from a naturalistic two-year follow-up study*. Am J Psychiatry, 2002;159:263-268.
17. Fullana MA, et al. *Obsessions and compulsions in the community: prevalence, interference, help-seeking, developmental stability, and co-occurring psychiatry conditions*. Am J. Psychiatry, 2009;166:329-336.
18. Karno M, Golding JM, Sorenson SB, Burnam MA. *The epidemiology of Obsessive-compulsive disorder in five US communities*. Arch Gen Psychiatry, 1988;45:1094-1099.
19. Weissman MM et al. *The cross national epidemiology of obsessive compulsive disorder: The Cross National Collaborative Group*. J Clin Psychiatry, 1994;55 (March suppl):5-10.
20. Stein MB, Forde DR, Anderson G, Walker JR. *Obsessive-compulsive disorder in the community: An Epidemiologic survey with clinical reappraisal*. Am J Psychiatry, 1997;154:1120-1126.
21. Caraveo-Anduaga JJ, Colmenares Bermúdez E. *The epidemiology of obsessive-compulsive disorder in Mexico City*. Salud Mental, 2004; 27(2): 1-6.
22. Perpiñá A, García L, Canalda-Salhi G, Boget-Llucíà T. *Aspectos neuropsicológicos del trastorno obsesivcompulsivo*. Rev Neurol 2002;35(10):959-963.
23. Jenike MA, M.D. *Obsessive–Compulsive Disorder*. N Engl J Med 2004;350:259-65.
24. Yücel M, et al. *Functional and Biochemical Alterations of the Medial Frontal Cortex in Obsessive-Compulsive Disorder*. Arch Gen Psychiatry August 2007; 64 (8): 946-955.
25. Guehl D, et. al. *Neuronal Correlates of Obsessions in the Caudate Nucleus*. Biol Psychiatry 2008; 63: 557–562.
26. Kathmann N, Rupertseder C, Hauke W & Zaudig M. *Implicit Sequence Learning in Obsessive-Compulsive Disorder: Further Support for the Fronto-Striatal Dysfunction Model*. Biol Psychiatry 2005; 58: 239–244.
27. Rossi S, et.al. *Hypofunctioning of Sensory Gating Mechanisms in Patients with Obsessive-Compulsive Disorder*. Biol Psychiatry 2005; 57: 16–20.
28. Arranz B, Rosel P, Ramírez N & San L. *Disfunción genética del receptor de serotonina 5-HT2A en los trastornos psiquiátricos*. Actas Esp Psiquiatr 2001; 29(2): 131-138.

29. Ressler KJ & Nemeroff CB. *Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders*. *Depression and Anxiety* 2000; 12 (supplement 1): 2-19.
30. Tsaltas E, et. al. *Reinforced Spatial Alternation as an Animal Model of Obsessive-Compulsive Disorder (OCD): Investigation of 5-HT_{2C} and 5-HT_{1D} Receptor Involvement in OCD Pathophysiology*. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 1176–1185.
31. Hasselbalch SG, et.al. *Reduced midbrain-pons serotonin transporter binding in patients with obsessive–compulsive disorder*. *Acta Psychiatr Scand* 2007; 115: 388–394.
32. Schatzberg AF et.al, *Neurotransmitters, receptors, signal transduction, and second messengers* en Textbook of Psychopharmacology. 3rd edición. American Psychiatric Publishing; USA, 2004. Pp 9-16.
33. Kim CH, et.al. *Dopamine Transporter Density in the Basal Ganglia in Obsessive-Compulsive Disorder, Measured with [¹²³I]IPT SPECT before and after Treatment with Serotonin Reuptake Inhibitors*. *Neuropsychobiology* 2007; 55: 156–162.
34. Denys D, et.al. *Low Level of Dopaminergic D2 Receptor Binding in Obsessive-Compulsive Disorder*. *Biol Psychiatry* 2004; 55: 1041–1045.
35. Chakrabarty K, Bhattacharyya S, Christopher R & Khanna S. *Glutamatergic Dysfunction in OCD*. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30: 1735–1740.
36. Salín-Pascual, RJ. *Trastornos de ansiedad y antidepresivos* en Neurobioquímica y psicofarmacología de las enfermedades psiquiátricas. Lulu, 2008. México. Pp 61-88, 117-122, 235-240.
37. Bolton, J et al. *Case Study: Caudate Glutamatergic Changes With Paroxetine Persist After Medication Discontinuation in Pediatric OCD*. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2001;40(8):903-906.
38. Ayuso-Mateos JL. *Global burden of obsessive-compulsive disorder in the year 2000* en Global burden of disease 2000, Global Program on Evidence for Health Policy, OMS, 2006.
39. Hollander E, et al *Uncomplicated and comorbid obsessive-compulsive disorder in an epidemiologic sample*. *Depression and Anxiety*, 1996;4:111–119.
40. Ordacgi L, Mendlowicz MV y Fontenelle LF. *Management of obsessive-compulsive disorder with fluvoxamine extended release*. *Neuropsychiatric Diseases and Treatment*, 2005;5:301-308.
41. Yaminishi T, et al. *Changes after behavior therapy among responsive and nonresponsive patients with obsessive-compulsive disorder*. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 2009;172:242–250.

42. Kim SJ, Kim CH. *The genetic studies of obsessive-compulsive disorder and its future directions*. Yonsei Med J, 2006;47(4):443-454.
43. Urraca N *et al.* *μ Opioid receptor gene as a candidate for the study of obsessive compulsive disorder with and without tics*. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2004;127B(1):94-96.
44. Hall D *et al.* *Sequence variants of the Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene are strongly associated with obsessive-compulsive disorder*. Am J Hum Genet, 2003; 73: 370-376.
45. Wendland JR, Kruse MR, Cromer KC, Murphy DL. *A large case-control study of common functional SLC6A4 and BDNF variants in obsessive-compulsive disorder*. Neuropsychopharmacology, 2007;32:2543-2551.
46. Hemmings SM, *et al.* *Investigating the role of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) val66met variant in obsessive-compulsive disorder (OCD)*. World J Biol Psychiatry 9:126–134.
47. Alonso P *et al.* *Extensive genotyping of the BDNF and NTRK2 genes define protective haplotypes against obsessive-compulsive disorder*. Biol Psychiatry, 2008;63:619-628.
48. Katerberg H, *et al.* *The role of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) val66met variant in the phenotypic expression of obsessive-compulsive disorder (OCD)*. Am J Med Genet Part B, 2009;150B:1050-1060.
49. Mössner R *et al.* *Brain-derived neurotrophic factor V66M polymorphism in childhood-onset obsessive-compulsive disorder*. Int J Neuropsychopharmacol, 2005; 8(1):133-136.
50. Zai G *et al.* *No association between brain-derived neurotrophic factor gene and obsessive-compulsive disorder*. Psychiatric Genetics, 2005;15:235.
51. Dickel DE, *et al.* *Association studies of serotonin system candidate genes in early-onset obsessive-compulsive disorder*. Biol Psychiatry, 2007;61(3):322-329.
52. Klaffke, S, *et al.* *Brain-derived neurotrophic factor: a genetic risk factor for obsessive-compulsive disorder and Tourette syndrome?* Mov Disord, 2006;21(6):881-883.
53. Nicolini H *et al.* *DRD2, DRD3 and 5HT2A receptor genes polymorphisms in obsessive-compulsive disorder*. Mol Psychiatry 1996;1:461-5.
54. Camarena B *et al.* *Association study between the dopamine receptor D4 gene and obsessive-compulsive disorder*. Eur Neuropsychopharmacol, 2007;17(6-7):406-9. Epub 2006 Sep 25.

55. Camarena B *et al.* Association study of the serotonin transporter gene polymorphism in obsessive-compulsive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2001;4(3):269-72.
56. Camarena B, Aguilar A, Loyzaga C y Nicolini H. A family-based association study of the 5-HT-1D β receptor gene in obsessive-compulsive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2004;7(1):49-53. Epub 2004 Jan 20.
57. Stein DJ *et al.* Brain-Derived Neurotrophic Factor: The Neurotrophin Hypothesis of Psychopathology. *Pearls in Clinical Neuroscience*, November, 2008; 945-949.
58. Brunoni AR, Lopes M, Fregni F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. *Int J Neuropsychopharmacol*, 2008;11(8):1169-80.
59. Rybakowski JK. Prefrontal cognition in schizophrenia and bipolar illness in relation to Val66Met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor gene. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 2006;60:70–76.
60. Zai CC, *et al.* Association study of BDNF and DRD3 genes in schizophrenia diagnosis using matched case-control and family based study designs. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2010;34:1412–1418.
61. Egan MF *et al.* The BDNF val66met Polymorphism Affects Activity-Dependent Secretion of BDNF and Human Memory and Hippocampal Function. *Cell*, 2003; 112:257–269.
62. Hemmings SM. *Investigating the molecular aetiology of Obsessive-compulsive disorder (OCD) and clinically defined subsets of OCD*. 2006 (Dessertation presented for the approval for the degree of Doctor of Philosophy).
63. Gratacòs M, *et al.* Brain-Derived Neurotrophic Factor Val66Met and Psychiatric Disorders: Meta-Analysis of Case-Control Studies Confirm Association to Substance-Related Disorders, Eating Disorders, and Schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 2007;61:911–922.
64. Lu B, Pang PT y Woo NH. The yin and yang of the neurotrphic action. *Nat Rev Neurosci*, 2005;6(8):603-14.
65. Pruunsild P, *et al.* Dissecting the human BDNF locus: Bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics*, 2007; 90(3): 397–406.
66. Chen CY, *et al.* Impact of genetic variant BDNF (Val66Met) on brain structure and function. Novartis Found Symp. 2008;289:180-8.
67. <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>
68. Burton PR, Tobin MD y Hopper JL. *Genetic epidemiology 1: Key concepts in genetic epidemiology*. *Lancet*, 2005;366:941-951.

69. Hopper JL, Bishop DT y Easton DF. *Genetic epidemiology 6: Population-based family studies in genetic epidemiology*. Lancet, 2005;366:1397-1406.
70. Cordel HJ y Clayton DG. *Genetic epidemiology 3: Genetic association studies*. Lancet, 2005;366:1121-1131.
71. Licinio J, Dong C y Wong, ML. *Novel Sequence Variations in the Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene and Association With Major Depression and Antidepressant Treatment Response*. Arch Gen Psychiatry. 2009;66(5):488-497.
72. Feinstein A. *Clinical Epidemiology: The Architecture of Clinical Research*. EUA, 1985. W.B. Saunders Company, Pp 812.
73. Goodman W, et al. The Yale-Brown obsessive-compulsive Scale. II. Validity. Arch Gen Psychiatry, 1989;46:1012-1016.
74. Nicolini H, et al. *Traducción al español y confiabilidad de la Escala Yale-Brown para el Trastorno Obsesivo-Compulsivo*. Salud Mental, 1996;6 (Suplemento):13-16.
75. Tregouet DA y Garelle V. A new JAVA interface implementation of THESIAS: testing haplotype effects in association studies. Bioinformatics, 2007;23(8): 1038–1039.
76. Pallanti S y Hollander E. *Obsessive-Compulsive Disorder Spectrum as a Scientific “Metaphor”*. CNS Spectr, 2008 (suppl 14);13:6-15.
77. Hollander E, et al. *Obsessive-compulsive disorder and obsessive-compulsive spectrum disorders: diagnostic and dimensional issues*. CNS Spectr, 2007;12(2, suppl 3):5-13.
78. Bienvenu OJ, et al. The relationship of obsessive-compulsive disorder to possible spectrum disorders: results from a family study. Biol Psychiatry, 2000;48(4):287-93.
79. Nestadt G, et al. The relationship between obsessive±compulsive disorder and anxiety and affective disorders: results from the Johns Hopkins OCD Family Study. Psychological Medicine, 2001;31,481-487.
80. Lóyzaga C, Nicolini H, Apiquian R y Fresán A. *Una aproximación al fenómeno esquizo-obsesivo*. Salud Mental, 2002;25(3):12-18.