



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
SECRETARIA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA
RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ
ESPECIALIDAD EN:
PSIQUIATRÍA

“Estudio de asociación del gen CACNA1C (subunidad alfa 1C del canal de calcio ligado a voltaje tipo-L) y el trastorno bipolar en población mexicana”

T E S I S

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
MEDICO ESPECIALISTA EN:
PSIQUIATRÍA

P R E S E N T A :

DRA. SEIDY ALEJANDRA PATRÓN CARRILLO

PROFESOR TITULAR

DR. ARMANDO VAZQUEZ LOPEZ GUERRA

ASESOR CLÍNICO

DRA. CLAUDIA BECERRA PALARS

ASESOR METODOLÓGICO

DRA. BEATRIZ CAMARENA MEDELLÍN



MÉXICO D.F.

FEBRERO DE 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE TEMÁTICO

- 1. Antecedentes**
- 2. Justificación**
- 3. Pregunta de investigación**
- 4. Objetivos**
 - 4.1 Objetivo General
 - 4.2 Objetivos específicos
- 5. Hipótesis**
- 6. Participantes**
 - 6.1 Población clínica
 - 6.1.1 Criterios de inclusión
 - 6.1.2 Criterios de exclusión
 - 6.1.3 Criterios de eliminación
 - 6.2 Grupo control
- 7. Material y Métodos**
 - 7.1 Diseño del estudio
 - 7.2 Definición conceptual y operacional de las principales variables
 - 7.3 Obtención de muestra y procedimientos
 - 7.4 Flujograma
 - 7.5 Análisis genético
 - 7.6 Análisis estadístico
- 8. Consideraciones Éticas**
- 9. Resultados**
 - 9.1 Variables sociodemográficas y clínicas de la muestra.
 - 9.2 Análisis de asociación genética entre los pacientes con TBP y sujetos sanos.
 - 9.3 Análisis de los polimorfismos rs1006737 y rs2370413 del CACN1C y características clínicas del trastorno bipolar.
 - 10.4 Análisis por haplotipos de los dos polimorfismos rs1006737 y rs2370413 y su asociación con características clínicas del trastorno bipolar.
- 10. Discusión**
- 11. Conclusiones**
- 12. Referencias bibliográficas**

1. ANTECEDENTES

Generalidades del TBP

El trastorno bipolar (TBP) es una enfermedad mental común, crónica que afecta la vida y la funcionalidad de millones de individuos a lo largo del mundo, es un problema de salud pública. La prevalencia mundial de TBP de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) es del 1% en la población general.¹ de acuerdo a los resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiológica Psiquiátrica en México en el 2003 la prevalencia del TBP I fue de 1.3 alguna vez en la vida 0.9 en los últimos 12 meses y 0.4 en el último mes, mientras que para el TBP II fue 2.0, 1.1 y 0.4 respectivamente.² Del mismo modo, la OMS ha reportado que la depresión unipolar está siendo una de las principales causas de incapacidad, pero si se toman en cuenta todos los trastornos del afecto podrían llegar a ocupar el 10% de la discapacidad mundial². La enfermedad se caracteriza por altas tasas de recaídas, cronicidad, síntomas residuales, deterioro cognitivo, disminución de la función psicosocial, así como disminución en la calidad de vida.³

El TBP se incluye dentro de los trastornos afectivos, está caracterizado por periodos anímicos depresivos y periodos eufóricos, es una enfermedad crónica, estos episodios se presentan de manera cíclica con periodos de remisión interepisódica.³

Emil Kraepelin en 1899 fue el primero en hacer una distinción entre la psicosis maniaco-depresiva de la demencia precoz, identificando la primera como un trastorno de buen pronóstico. Él describió un patrón característico de remisión entre los episodios de manía y los episodios depresivos, lo opuesto al deterioro y cronicidad que observaba en la demencia precoz, también describió una fase interepisódica de “debilidad crónica leve” en la psicosis maniaco depresiva con un menor grado de síntomas maníacos y depresivos, teniendo la creencia de que existe un continuum entre severidad de la salud y la enfermedad.⁴En 1957 Leonhard observó que algunos pacientes tenían historia de depresión y de manía, otros solo tenían historia de depresión; denominando a los pacientes con antecedente de manía por primera vez como “bipolares” y los que sólo tenían antecedente

de episodios depresivos fueron denominados como “monopolares”. Dunner and Fieve en 1974 hicieron la distinción entre TBP I y TBP II basados en la severidad de la fase de elevación del estado de ánimo, definiendo TBP I por la presencia de al menos un episodio maniaco en la vida y el TBP II por la presencia de episodios depresivos y de hipomanía.⁵

Es importante señalar que el diagnóstico del TBP es clínico ya que aún no existe algún estudio diagnóstico específico, por lo cual es importante definir las características clínicas de un episodio depresivo, episodio de manía, hipomanía y mixto, para partir de ahí a las características de clasificación del TBP.⁴ Los criterios que se utilizan con mayor frecuencia para establecer el diagnóstico son los expuestos en el Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-IV-TR). De acuerdo a este manual los criterios son los siguientes:

Episodio depresivo mayor:

A. Presencia de cinco (o más) de los siguientes síntomas durante un periodo de 2 semanas, que representan un cambio respecto a la actividad previa; uno de los síntomas debe ser (1) estado de ánimo depresivo o (2) pérdida de interés o de la capacidad para el placer.

Nota: No incluir los síntomas que son claramente debidos a enfermedad médica o las ideas delirantes o alucinaciones no congruentes con el estado de ánimo.

1. estado de ánimo depresivo la mayor parte del día, casi cada día según lo indica el propio sujeto (p. ej., se siente triste o vacío) o la observación realizada por otros (p. ej., llanto). Nota: En los niños y adolescentes el estado de ánimo puede ser irritable.
2. disminución acusada del interés o de la capacidad para el placer en todas o casi todas las actividades, la mayor parte del día, casi cada día (según refiere el propio sujeto u observan los demás).
3. pérdida importante de peso sin hacer régimen o aumento de peso (p. ej. Un cambio de más del 5% del peso corporal en un mes), o pérdida o aumento del apetito casi cada día. Nota: En niños hay que valorar el fracaso en lograr los aumentos de peso esperables
4. Insomnio o hipersomnias casi cada día.

5. agitación o enlentecimiento psicomotores casi cada día (observable por los demás, no meras sensaciones de inquietud o de estar enlentecido).
6. fatiga o pérdida de energía casi cada día.
7. sentimientos de inutilidad o de culpa excesiva o inapropiados (que pueden ser delirantes) casi cada día (no los simples autor reproches o culpabilidad por el hecho de estar enfermo).
8. disminución de la capacidad para pensar o concentrarse, o indecisión, casi cada día (ya sea una atribución subjetiva o una observación ajena).
9. pensamientos recurrentes de muerte (no sólo temor a la muerte), ideación suicida recurrente sin un plan específico o una tentativa de suicidio o un plan específico para suicidarse.

B. Los síntomas no cumplen los criterios para un episodio mixto.

C. Los síntomas provocan malestar clínicamente significativo o deterioro social, laboral o de otras áreas importantes de la actividad del individuo.

D. Los síntomas no son debidos a los efectos fisiológicos de una sustancia (p. ej., una droga, un medicamento) o una enfermedad médica (p. ej., hipotiroidismo).

E. Los síntomas no se explican mejor por la presencia de un duelo (p. ej., después de la pérdida de un ser querido), los síntomas persisten durante más de 2 meses o se caracterizan por una acusada incapacidad funcional, preocupaciones mórbidas de inutilidad, ideación suicida, síntomas psicóticos o enlentecimiento psicomotor.

Episodio maníaco:

A. Un periodo diferenciado de un estado de ánimo anormal y persistentemente elevado, expansivo o irritable, que dura al menos 1 semana (o cualquier duración si es necesaria la hospitalización).

B. Durante el período de alteración del estado de ánimo han persistido tres (o más) de los siguientes síntomas (cuatro si el estado de ánimo es sólo irritable) y ha habido en un grado significativo:

1. autoestima exagerada o grandiosidad.
2. disminución de la necesidad de dormir (p.ej., se siente descansado tras sólo 3 horas de sueño).

3. más hablador de lo habitual o verborreico.
4. fuga de ideas o experiencia subjetiva de que el pensamiento está acelerado.
5. distraibilidad (p.ej., la atención se desvía demasiado fácilmente hacia estímulos externos banales o irrelevantes).
6. aumento en la actividad intencionada (ya sea socialmente, en el trabajo o en los estudios, o sexualmente) o agitación psicomotora.
7. implicación excesiva en actividades placenteras que tienen un alto potencial para producir consecuencias graves (p. ej., enzarzarse en compras irrefrenables, indiscreciones sexuales o inversiones económicas alocadas).

C. Los síntomas no cumplen los criterios para el episodio mixto.

D. La alteración del estado de ánimo es suficientemente grave como para provocar deterioro laboral o de las actividades sociales habituales o de las relaciones con lo demás, o para necesitar hospitalización con el fin de prevenir daños a uno mismo o a los demás, o hay síntomas psicóticos.

E. Los síntomas no son debidos a los efectos fisiológicos directos de una sustancia (p.ej., una droga, un medicamento u otro tratamiento) ni a una enfermedad médica (p.ej., hipertiroidismo).

Nota: Los episodios parecidos a la manía que están claramente causados por un tratamiento somático antidepresivo (p.ej. un medicamento, terapéutica electroconvulsiva, terapéutica lumínica) no deben ser diagnosticados como trastorno bipolar I.

Episodio de hipomanía:

A. Un período diferenciado durante el que el estado de ánimo es persistentemente elevado, expansivo o irritable durante al menos 4 días y que es claramente diferente del estado de ánimo habitual.

B. Durante el período de alteración del estado de ánimo, han persistido tres (o más) de los siguientes síntomas (cuatro si el estado de ánimo es sólo irritable) y ha habido en un grado significativo:

1. Autoestima exagerada o grandiosidad.
2. Disminución de la necesidad de dormir (p. ej. se siente descansado tras sólo 3 horas de sueño).

3. Más hablador de lo habitual o verborreico.
4. Fuga de ideas o experiencia subjetiva de que el pensamiento está acelerado.
5. Distraibilidad (p.ej. la atención se desvía demasiado fácilmente hacia estímulos externos banales o irrelevantes).
6. Aumento de la actividad intencionada (ya sea socialmente, en el trabajo o los estudios o sexualmente) o agitación psicomotora.
7. Implicación excesiva en actividades placenteras que tienen un alto potencial para producir consecuencias graves (p. ej. enzarzarse en compras irrefrenables, indiscreciones sexuales o inversiones económicas alocadas).
8. El episodio está asociado a un cambio inequívoco de la actividad que no es característico del sujeto cuando está asintomático.

D. La alteración del estado de ánimo y el cambio de la actividad son observables por los demás.

E. El episodio no es suficientemente grave como para provocar un deterioro laboral o social importante o para necesitar hospitalización, ni hay síntomas psicóticos.

F. Los síntomas no son debidos a los efectos fisiológicos directos de una sustancia (p. ej. una droga, un medicamento u otro tratamiento) ni a una enfermedad médica (p. ej. hipertiroidismo).

Episodio mixto:

A. Se cumplen los criterios tanto para un episodio maníaco, como para un episodio depresivo mayor (excepto en la duración) casi cada día durante al menos un período de 1 semana.

B. La alteración del estado de ánimo es suficientemente grave para provocar un importante deterioro laboral, social o de las relaciones con los demás, o para necesitar hospitalización con el fin de prevenir los daños a uno mismo o a los demás, o hay síntomas psicóticos.

C. Los síntomas no son debidos a los efectos fisiológicos directos de una sustancia (p. ej. una droga, un medicamento u otro tratamiento) ni a enfermedad médica (p. ej. hipertiroidismo).

El DSM-IV-TR en el apartado de TBP incluye cuatro tipos: TBP I, TBP II, la ciclotimia y el TBP no especificado. El TBP I es un curso clínico caracterizado por uno o más episodios maníacos o mixtos, es frecuente que los sujetos también hayan presentado uno o más episodios depresivos mayores. La característica esencial del TBP II es un curso caracterizado por la aparición de uno o más episodios depresivos mayores acompañados de al menos un episodio hipomaniaco, los episodios hipomaniacos se tienen que diferenciar minuciosamente con los días de eutimia que pueden seguir a la remisión de un episodio depresivo mayor, la presencia de un episodio maníaco o mixto impide que se realice el diagnóstico de TBP II. La ciclotimia se caracteriza por la presencia, durante al menos 2 años de numerosos periodos de síntomas hipomaniacos y numerosos periodos de síntomas depresivos que no cumplen los criterios para un episodio depresivo mayor, durante el periodo de más de dos años la persona no ha dejado de presentar estos síntomas durante un tiempo superior a dos meses y durante estos dos años no se ha presentado ningún episodio depresivo mayor, maníaco o mixto. La categoría de un TBP no especificado incluye los trastornos con características bipolares que no cumplen los criterios para ningún TBP específico.⁶

La edad de inicio va desde la infancia hasta etapas tardías de la vida, anteriormente se reportaba el inicio con mayor frecuencia entre los 20 y los 30 años; sin embargo, reportes más recientes reportan un inicio antes de los 20 años, se ha observado que en los pacientes con antecedentes familiares la edad de inicio es similar.^{7,8}

El curso clínico del TBP es altamente variable y algo que puede influenciar en esta variabilidad pueden ser factores hereditables. Particularmente, se ha encontrado en diversos estudios la relación con la edad de inicio, el patrón del curso clínico, incluyendo el ciclaje rápido.^{10,11}

En cuanto al tipo de episodio de inicio la mayoría de estudios retrospectivos han reportado que el inicio con episodios depresivos es más común que episodios de manía, sin embargo esto no ha sido demostrado consistentemente.¹¹ El inicio con síntomas depresivos se ha asociado con una edad menor de inicio y más episodios depresivos a lo largo de la vida, así como episodios depresivos severos. En un estudio de seguimiento de 15 años que incluyó 165 pacientes con TBP encontraron que la polaridad de inicio predice la polaridad

de episodios futuros, en los individuos que iniciaron con un episodio de manía el 75% de los episodios siguientes fueron de manías y los pacientes que iniciaron con un episodio depresivo entre el 55 y 60% de los episodios siguientes fueron depresivos.¹²

En cuanto al género algunos estudios han reportado que en mujeres es más frecuente el TBP II, sin embargo en otros estudios los hallazgos no han mostrado diferencias en cuanto al subtipo y la edad de inicio. Un estudio realizado por Kawa et.al, reportó que en hombres es más frecuente que inicie con un episodio de manía comparado con mujeres, también reportaron en cuanto a comorbilidades que los hombres tienen mayor comorbilidad con trastornos de la conducta y por uso de sustancias y las mujeres con trastornos de la conducta alimentaria.¹³

Entre los factores predictores o correlacionadas con recurrencias uno de los más consistentes que se sabe que aumenta la tendencia a recurrencias futuras es el número de episodios previos, entre otros encontramos: hospitalizaciones, antecedentes familiares de TBP, síntomas depresivos o de hipomanía residuales, comorbilidades psiquiátricas, uso de sustancias; en términos de alteraciones orgánicas se ha reportado que hiperintensidades en la sustancia blanca está asociada con más hospitalizaciones, entre los factores psicosociales precipitantes algunos estudios reportan mayores recaídas en pacientes con familiares con alta emoción expresada y eventos adversos en la vida.^{10,14,15}

Estudios consistentes han mostrado que entre el 30 y 60% de los pacientes con TBP tienen un pobre funcionamiento psicosocial interepisódico y algunos estudios han relacionado positivamente una detección temprana, adecuado control, un menor número de episodios y un adecuado nivel de funcionamiento previo.

En cuanto a los déficits neurocognitivos en pacientes con TBP, se ha observado que también están presentes en los pacientes en eutimia, Savitz en el 2005 reportó disminución en la atención, inhibición, planeación, control ejecutivo de la memoria de trabajo, memoria verbal, memoria visual y en la velocidad psicomotriz.¹⁶

Neurobiología del TBP

En años recientes se ha avanzado en el entendimiento de circuitos neuronales, sinapsis, plasticidad neuronal y mecanismos moleculares de señalización (presinápticos y postsinápticos), lo que también contribuye a entender la función de proteínas específicas, la identificación de genes que codifican dichas proteínas, así como alteraciones en estos podría ser útil para identificar factores genéticos predisponentes para desarrollar trastornos neuropsiquiátricos.¹⁶

El TBP es una enfermedad compleja, estudios previos de neurobiología de los trastornos del afecto principalmente se enfocaban en los sistemas monoaminérgicos, así como en sus características clínicas de cada episodio, en el entendimiento de la respuesta a los estabilizadores del estado de ánimo, antipsicóticos y antidepresivos. El sistema monoaminérgico esta extensamente distribuido en el sistema límbico, corteza prefrontal y otros circuitos que podrían explicar estos cambios conductuales. Estudios en líquido cefalorraquídeo muestran cambios químicos y neuroendocrinos en respuesta a los tratamientos farmacológicos, el bloqueo de receptores y neuroreceptores ha mostrado numerosas anomalías en el sistema monoaminérgico y en el sistema neuropeptico en los trastornos afectivos. Desafortunadamente estas observaciones no son de gran utilidad para entender la biología de los trastornos afectivos.^{17, 18}

En el caso del TBP se ha sugerido que se podría estar relacionado con una interacción compleja de susceptibilidad genética y factores ambientales, así como fenotipos de la enfermedad que no incluye únicamente alteraciones en el estado de ánimo, también alteraciones cognitivas, motoras, autonómicas, endocrinas y en el sueño/vigilia.¹⁹

Recientemente se han propuesto nuevos neurotransmisores candidatos en el TBP, principalmente el glutamato y el ácido gama-aminobutírico (GABA). Diversos estudios en trastornos afectivos han reportado incremento en metabolitos del glutamato principalmente en corteza prefrontal, hipocampal, insular y occipital, independientemente del estado afectivo. Otro estudio reportó incremento en la expresión del transportador de glutamato 1 en la corteza anterior en tejido cerebral postmortem de pacientes con TBP, reflejando un incremento en la actividad sináptica glutamatérgica. La activación glutamatérgica excesiva

del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) puede llevar a un influxo de calcio neurotóxico, que se ha propuesto como un potencial mecanismo en la neuropatología del TBP. La lamotrigina que también es usada en el tratamiento de pacientes con TBP como estabilizador del estado de ánimo es un agente antiglutamatérgico.^{20, 21}

La inhibición de GABA es otro mecanismo al cual se atribuyen trastornos psiquiátricos como esquizofrenia y trastornos afectivos, en cuanto al TBP esta teoría es apoyada debido a que el valproato de magnesio que se usa como estabilizador del estado de ánimo y con una respuesta favorable, tiene mecanismos gabaérgicos.²²

Algunas vías de transducción de señalización que activan segundos mensajeros están involucradas en la regulación de la neuroplasticidad, algunas de ellas involucradas en la fisiopatología del TBP, entre estas encontramos; la vía de proteínas G ligadas a AMPc, que activa el trifosfato de inositol como segundo mensajero, cambios activados por un ligando unido a receptores en la superficie celular regula de manera directa la actividad de otras proteínas de membrana, por ejemplo, los canales activados por voltaje y las tirosinas quinasas receptoras. En el caso de las proteínas G se ha visto que en los pacientes con TBP un incremento en el subtipo G α en la región frontal y occipital, esta subunidad también se ha encontrado elevada en células sanguíneas tanto en episodios agudos como en eutimia.^{23,24}

Otras teorías involucran al eje hipotalámico-hipofisario-adrenal, proponiendo que el exceso en la actividad del cortisol contribuye a la neuropatología del TBP, los receptores de glucocorticoides son abundantes en la corteza prefrontal, amígdala e hipocampo. Existe evidencia de disfunción de este eje en pacientes con trastornos afectivos, reflejando una hipersecreción de cortisol y hormona liberadora de corticotropina, así como disfunción en los receptores del cortisol, a su vez un incremento en el cortisol altera su liberación circadiana. En pacientes con TBP se han reportado anomalías en la prueba de supresión con dexametasona, esto se ha reportado en pacientes con episodios agudos y en eutimia.^{25, 26}

Las neurotrofinas, proteínas que son sintetizadas en respuesta a estimulación neuronal, que modulan el crecimiento, desarrollo y plasticidad neuronal, también se han

involucrado en la neurobiología del TBP, debido a que algunos estudios reportan que el factor neurotrófico derivado del cerebro (BNDF) que pertenece a la familia de las neurotrofinas, se encuentra disminuido durante episodios depresivos y de manía en pacientes con TBP, incluso hallazgos de otros estudios reportan que el litio incrementa los niveles del BNDF en el tratamiento de episodios de manía.^{27, 28}

Se han reportado anormalidades en estudios de neuroimagen e histopatológicos en la corteza prefrontal, temporal y regiones subcorticales en pacientes con TBP, estas regiones están asociadas con la regulación afectiva, procesamiento emocional y cognición. Estudios postmortem de tejido cerebral de pacientes con TBP, han reportado cambios en la densidad neuronal y morfología en corteza prefrontal, hipocampo y amígdala, así como disminución en la densidad neuronal en la corteza cingulada anterior, disminución de las células piramidales en la región CA1 del hipocampo. También se ha encontrado disminución en la densidad de la glía, particularmente en la densidad de oligodendrocitos en áreas corticales prefrontales.^{29, 30, 31}

Un meta-análisis de estudios de neuroimagen realizado por Arone et al, mostró una reducción en el volumen de la corteza prefrontal, insular, aumento en el volumen de los ventrículos laterales, sin embargo esto es cuestionable debido a que es importante tener en cuenta el efecto de los estabilizadores del estado de ánimo ya que se ha reportado incremento en el volumen de la amígdala e hipocampo a comparación de los pacientes con TBP sin tratamiento. Otro hallazgo en estudios con resonancia magnética han reportado alteraciones en la sustancia blanca, así como hiperintensidades periventriculares en regiones subcorticales, incluso en pacientes jóvenes que cursan con un primer episodio afectivo.^{32, 33}

Una cuestión importante es si estas anormalidades encontradas podrían ser consideradas anormalidades del neurodesarrollo en estos pacientes o son desarrolladas por el progreso de la enfermedad. Algunos autores apoyan que es secundario a la evolución de la enfermedad, Robinson y Ferrier encontraron que un curso peor en términos de larga evolución, número de episodios y número de hospitalizaciones está asociado con un mayor deterioro estructural, funcional y neuropsicológico.³⁴

Genética y TBP

La epidemiología genética clásica en estudios de familias, gemelos y de adopción, han sustentado evidencia de que existe una predisposición genética para desarrollar el trastorno. Algunos estudios reportan que el riesgo de desarrollar TBP a lo largo de la vida en personas sin antecedentes familiares es de 0.5 a 1.5%, en personas con familiares de primer grado se incrementa a 5-10% lo que indica aproximadamente un riesgo 8 veces mayor que la población general, en gemelos monocigotos es de un 40 a 70% (riesgo aproximado 60 veces mayor).³⁵

La heredabilidad del trastorno se ha estimado entre el 80 y 90%. Esto es lo que ha llevado a muchos esfuerzos por localizar e identificar las variantes genéticas involucrados con su desarrollo. Se sabe que la transmisión familiar del TBP no corresponde a patrones de herencia mendelianos.

Por lo anterior se han realizado diferentes estudios de genética, con la finalidad de analizar diferentes genes que pudieran intervenir en la presentación del TBP. Incluso se ha estudiado la variación en polimorfismos de nucleótido sencillo (SNPs) en secuencias del DNA, ya que pueden contribuir a identificar las variantes de riesgo. La asociación entre el genotipo y el fenotipo para los trastornos psiquiátricos es claramente complejo, no podemos tener la visión reduccionista de solo hablar de factores genéticos, ya que el punto importante es que en la mayoría de los casos de TBP envuelve una interacción de varios genes o mecanismos genéticos más complejos junto con factores de riesgos ambientales y factores estocásticos.

Si hablamos de genotipos, no podemos dejar de hablar de fenotipo que se entiende como la expresión del genotipo en función de un determinado ambiente, estos rasgos pueden ser físicos o conductuales, diversas variables fenotípicas se han identificado en familias donde se encuentran varios afectados con TBP lo cual es relevante en estudios genéticos, entre las más relevantes encontramos la edad de inicio, presencia de síntomas psicóticos, temperamento, suicidabilidad, uso de sustancias entre otros.^{35, 36}

Se han realizado cientos de estudios de asociación de genes candidatos en las últimas dos décadas. La mayoría de estos genes fueron definidos como candidatos en base a teorías biológicas de observaciones farmacológicas o en anomalías encontradas en tejido cerebral en pacientes postmortem; sin embargo, estos estudios han sido inconsistentes por los diferentes grupos de investigación. Entre estos, se han estudiado el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y catecol-o-metil transferasa (COMT). Otros genes que se han asociado al TBP son, el Disrupted in Schizophrenia 1 (DISC1), el transportador de dopamina (SLC6A3), receptor de glutamato NMDA, subunidad 2B (GRIN2B), activador de D-amino-acido oxidasa (DAOA), neuroregulina1 (NRG1) transportador de serotonina (SLC6A4) y triptófano hidroxilasa-2 (TPH2).^{37, 38, 39}

Estudios recientes han explorado la asociación nosológica entre trastornos afectivos y trastornos psicóticos y sorpresivamente se ha encontrado estudios de asociación que reportan evidencia de una relación entre el TBP y esquizofrenia, observando que comparten significativamente ciertas asociaciones genómicas como el gen de la proteína 804A del dedo de Zinc (ZNF804A), inhibidores de la tripsina inter alfa 3 y 4 (ITIH3-ITIH4), Ankirin 3 (ANK3), subunidad alfa 1C del canal de calcio ligado a voltaje tipo-L (CACNA1C) y gen de la enzima MAP quinasa 3 (MAPK3), estos hallazgos podrían explicar la vulnerabilidad de desarrollar ambos trastornos en familias.^{35,40}

Los estudios de asociación de genoma completo (GWAS) inicialmente no reportaron datos convincentes, aunque los estudios que implicaron subunidades de canales de calcio han sido replicados en estudios subsecuentes. Los estudios iniciales fueron realizados en su mayoría en Europa, el primer estudio reportó una asociación significativa con la diacilglicerol quinasa (DGKH), sin embargo no fue replicado.^{41, 42}

En otro estudio realizado por Ferreira y colaboradores (2008) encontraron una asociación del ANK3 y CACNA1C, otro estudio reportó asociación con NCAN sin embargo no se encontró esta asociación en otros estudios. El Psychiatric Genome-Wide Association Study Consortium Bipolar Disorder Working Group (PGC-BD) encontraron dos asociaciones significativas con CACNA1C y ODZ4 (gen codificador de la proteína homóloga humana de la Drosophila teneurina 4). Este mismo grupo mostró la categoría ontológica del gen del canal de calcio ligado al voltaje, identificaron tres subunidades en

esta categoría CACNA1C, CACNA1D y CACNB3, los dos primeros codifican la subunidad alfa ligada al voltaje tipo L que se encuentran en el cerebro lo cual es de gran interés debido a la literatura que reporta el rol de los canales iónicos en el TBP, así como en los efectos de los estabilizadores del estado de ánimo en la modulación de canales iónicos y específicamente se ha reportado una eficacia bloqueando los canales de calcio ligada al voltaje tipo L.^{43, 44}

Los canales de calcio y el TBP

Los cationes de calcio (Ca^{2+}) son mensajeros intracelulares versátiles, derivado de la variación de su concentración en el citosol, regulado por la apertura de canales de calcio expresados en la membrana plasmática. Bajo condiciones fisiológicas en el impulso eléctrico de la neurona el Ca^{2+} genera diferentes tipos de señales, cuando la neurona se encuentra en reposo existen mayores concentraciones de Ca^{2+} en el espacio extracelular, mientras que en el espacio intracelular es menor. Este gradiente se mantiene por un buffer de proteínas así como por sistemas transportadores de Ca^{2+} membranaral intrínseco, capaz de remover el Ca^{2+} del citosol dentro del espacio extracelular.

El Ca^{2+} tiene una importante función en la señalización cerebral esto es de relevancia en enfermedades neurodegenerativas, ya que se ha propuesto que alteraciones en la regulación de los canales de calcio, así como otras alteraciones en proteínas que actúan a nivel neuronal, pueden contribuir a la activación de proteasas involucradas en la muerte neuronal.

Las mitocondrias y el retículo endoplásmico están involucradas en la homeostasis del calcio ya que estos organelos también están involucrados en la muerte celular lo que conduce a degeneración neuronal. Esta relación entre la disregulación del Ca^{2+} , mitocondria y degeneración neuronal es particularmente evidente en modelos genéticos en animales. Por lo anterior, se ha propuesto que mutaciones u otras alteraciones en genes codificantes de proteínas o canales reguladores de Ca^{2+} se consideran factores de riesgo genéticos para algunas enfermedades neurodegenerativas.⁴⁵

Se ha reportado que existen alteraciones intracelulares de Ca^{2+} en pacientes con TBP y TDM, sin embargo estos mecanismos no son claros. Weston et al. fueron los primeros en relacionar alteraciones en la homeostasis del Ca^{2+} con el TBP, ellos compararon niveles séricos en líquido cefalorraquídeo entre pacientes con episodios de manía y episodios depresivos y reportaron niveles menores en pacientes con manía, en otro estudio realizaron mediciones en sangre y orina sin encontrar diferencias, sin embargo otros autores replicaron estos estudios y los hallazgos fueron contradictorios. Una evidencia sugerente de alteraciones intracelulares fue un estudio que reportó una mayor actividad de Ca^{2+} ATPasa en eritrocitos de pacientes con TBP comparado con controles. Otros estudios en los cuales se medían los niveles de Ca^{2+} en plaquetas, linfocitos T, linfocitos B y neutrófilos en su mayoría se encontraron niveles elevados en pacientes con manía, sin embargo también se reportaron elevaciones incluso en pacientes en eutimia. Algunos autores han propuesto que estas alteraciones en la homeostasis del Ca^{2+} podrían ser dependientes al episodio agudo, con una tendencia a la normalización con la remisión de los episodios, esto continúa siendo cuestionable.^{46, 47}

Los canales de calcio son proteínas oligoméricas, existe un número importante de ellos en el sistema nervioso. Las corrientes de los canales de calcio ligados al voltaje se han clasificado basándose en sus propiedades farmacológicas y electrofisiológicas. Según el voltaje necesario para desencadenar el paso de la corriente, se dividen en tres grupos: activados por alto voltaje (tipos L, N, P y Q), activados por voltaje intermedio (tipo R) y activados por bajo voltaje (tipo T). Debe anotarse que algunos autores clasifican los canales tipo R, como HVA (activados por alto voltaje).

Los canales de calcio ligados a voltaje tipo L (LTCC), es una familia conformada por cuatro miembros $\text{Ca}_v1.1$ a $\text{Ca}_v1.4$. El $\text{Ca}_v1.2$ es el principal LTCC expresado en el cerebro de mamíferos, este canal tiene tres subunidades: alfa 1C transmembranal, alfa 2 delta y la subunidad beta intracelular.

El $\text{Ca}_v1.2$ subunidad alfa 1C consiste en cuatro dominios (I-IV), cada uno con seis segmentos helicoidales alfa transmembranales (S1-S6), que conectan el espacio intracelular con el extracelular. En las neuronas del sistema nervioso central los $\text{Ca}_v1.2$ están localizados principalmente en las dendritas postsinápticas y el soma y están distribuidas a

través del árbol dendrítico, esta localización somatodendrítica juega un rol principal en la excitación de estos canales mediada por el Ca^{2+} , que modula a transcripción del gen haciendo al $\text{Ca}_v1.2$ un regulador efectivo de las vías de señalización. Se ha propuesto que la regulación a la baja de $\text{Ca}_v1.2$ y otros LTCC está asociada a la calmodulina que es un componente esencial en el mecanismo de la inactivación calcio-dependiente, para evitar la sobrecarga de calcio durante los potenciales de acción largos. La relación cercana de los canales de calcio, calmodulina y las vías calcio/calmodulina se ha observado que juega un rol en la plasticidad sináptica regulando la formación de la estructura del citoesqueleto lo que se cree como una posible explicación de cómo estos canales están alterados en algunos trastornos psiquiátricos.

Se sabe que el canal $\text{Ca}_v1.2$ es codificado por el gen *CACNA1C*, una de las principales características del canal $\text{Ca}_v1.2$ es detectar el voltaje, selectividad iónica y la respuesta farmacológica asociada al bloqueo de los canales de calcio. Existe evidencia de que mutaciones funcionales del gen *CACNA1C* predispone a diferentes trastornos como son del espectro autista, síndrome de Timothy y otros trastornos psiquiátricos, principalmente el TBP.

Como se ha mencionado, resulta importante identificar los genes asociados a diversos trastornos; sin embargo, es aún más importante comprender las consecuencias funcionales de la asociación entre estas variantes genéticas y el trastorno de interés. Existen diferentes estudios que reportan que los *CACNA1C* juegan un papel importante en el desarrollo dendrítico, supervivencia neuronal, plasticidad neuronal y en la memoria/aprendizaje.⁴⁸

Los canales de calcio ligados a voltaje tipo L se han encontrado que juegan un papel importantes en el comportamiento mediado por la vía mesolímbica, que tradicionalmente define el circuito que va del área tegmental ventral al núcleo accumbens, mediado por la interacción con el hipocampo, corteza medial prefrontal y la amígdala, que probablemente están relacionados con los circuitos de recompensa en los trastornos del afecto y esquizofrenia. En ratas los antagonistas de los canales de calcio ligados a voltaje tipo L, atenúa la ingesta de agua azucarada que era previamente gratificante.

Las disfunciones en el hipocampo están relacionadas con la patogénesis de trastornos del afecto y esquizofrenia, que puede ser relevante para la inestabilidad emocional y la disfunción en la memoria hipocampal observada en ambos trastornos. Una región knockout específica del *CACNA1C* en el hipocampo y neocorteza del ratón conduce a una pérdida de axones colaterales/AIC que se relaciona con una disminución en la activación de la vía proteína kinasa activada por mitógenos (MAPK) y disminuye la vía del factor de transcripción del AMPc (CREB) en neuronas piramidales. Los canales de calcio ligados a voltaje tipo L también son conocidos por regular la función de la amígdala y las conductas reguladas por esta, son importantes para la formación de la memoria a largo plazo del miedo, los antagonistas de estos canales administrados en los ventrículos o directamente en la amígdala interfieren en la adquisición pero no en la extinción del aprendizaje del miedo.⁴⁹

Estudios también han encontrado que uno de los mecanismos de acción en los trastornos del afecto pueden relacionarse con las vías de señalización del calcio, de hecho el litio ha demostrado una inhibición indirecta en el funcionamiento del receptor de inositol-1,4,5-trifosfato, esto juega un rol fundamental en la liberación del calcio intracelular. Recientemente se ha demostrado que el bloqueo farmacológico del receptor del inositol trifosfato o a través de la proteína knockdown conduce a un fenotipo antidepresivo, similar al que se produce con fármacos antidepresivos, específicamente mejoría en síntomas depresivos con la administración de litio, el cual actúa a través del monofosfato de inositol.¹⁹

El gen *CACNA1C* y el TBP

El gen *CACNA1C* está localizado en el brazo corto del cromosoma 12p13.3, abarca aproximadamente 6.45 Mb de la región genómica (Gene ID 775). El gen consiste en al menos 55 exones, los cuales abarcan aproximadamente 740kb. Numerosos SNPs se han relacionado a patologías psiquiátricas concentrados principalmente en el intrón 3 (328.5kb), con una limitada información sobre las consecuencias funcionales. Dada la localización de la mayoría de los SNPs en regiones no codificadoras del gen no se espera que interfiera directamente con la estructura funcional del $Ca_v1.2$. Este gen se expresa en diferentes

tejidos humanos en diferentes etapas del desarrollo, estas expresiones se han observado en el cerebro (especialmente en el hipocampo y el tálamo), arterias cerebrales, cavidades cardiacas, músculo cardiaco y fibroblastos.⁴⁹

Estudios de asociación entre del gen *CACNA1C* y el TBP

En cuanto a los efectos del *CACNA1C* en las funciones del cerebro humano se han reportado diversos estudios tanto en pacientes sin diagnóstico de alguna patología psiquiátrica, como en pacientes que presentan patologías psiquiátricas, principalmente asociado a TBP, Depresión y Esquizofrenia, sin embargo estos cambios solo incrementan la probabilidad de estos trastornos, no son determinantes. En sujetos sanos el SNP rs1006737 se ha asociado con diferencias en diferentes tareas neuropsicológicas.⁴⁹

Bigos et al. en el 2010 realizaron un estudio con la finalidad de identificar los mecanismos neuronales que podrían explicar la asociación del polimorfismo rs1006737 del *CACNA1C* con trastornos psiquiátricos principalmente con esquizofrenia y TBP, plantearon la hipótesis de que sujetos sanos portadores del alelo A podrían tener un incremento en la actividad de la amígdala y el hipocampo en respuesta a estímulos emocionales a comparación de sujetos con el alelo G, así como una respuesta deficiente en la actividad prefrontal durante realización de tareas de memoria de trabajo, que también se ha reportado en pacientes con esquizofrenia y TBP, utilizando resonancia magnética funcional. Aplicaron tareas para evaluar la respuesta a estímulos emocionales y el reconocimiento facial de emociones con la finalidad de evaluar estructuras temporales mediales involucradas en el procesamiento emocional que se asocia a trastornos del afecto, en la respuesta a estímulos emocionales se encontró que el alelo AA se asoció significativamente con una actividad hipocampal bilateral incrementada a comparación de los otros alelos, en el reconocimiento facial ese mismo alelo se asoció con un incremento ligeramente mayor en la actividad de la amígdala derecha. Al examinar el efecto del *CACNA1C* en la memoria de trabajo que se ha asociado con alteraciones en el procesamiento cognitivo de la corteza prefrontal en pacientes con esquizofrenia, sujetos homocigotos AA tuvieron un mayor actividad en la corteza prefrontal, lo que sugiere un efecto del *CACNA1C* en la memoria de trabajo específicamente en la corteza prefrontal. En este mismo estudio se evaluó el efecto de las variaciones genéticas del SNP rs1006737 con la finalidad de entender la asociación

clínica y las diferencias funcionales en los circuitos cerebrales, se evaluó la expresión del mRNA en una cohorte humana de tejido cerebral postmortem, el genotipo AA tuvo una expresión mayor a comparación de GA donde la expresión fue intermedia y GG donde la expresión fue más baja. Estas variaciones genéticas muestran la relación del procesamiento emocional en áreas temporales mediales, que se asocia a un mayor riesgo de desarrollar TBP, esto a su vez sugiere que la disfunción en los canales de calcio puede contribuir en parte a la etiología genética del TBP a través de alteraciones en la actividad funcional de circuitos cerebrales implicados en el TBP.⁵⁰

En un estudio reportado por Zhang et al. (2013) se encontró una asociación significativa en la frecuencia del genotipo del SNP rs1051375 en pacientes con TBP ($p=0.005$), el alelo G fue significativamente más frecuente en pacientes con TBP, también encontraron que el genotipo GG de rs1051375 se relacionaba con una edad menor de inicio que los que tenían el genotipo AG o AA (24.04 ± 4.22 , 25.76 ± 4.75 y 25.78 ± 4.33 años, respectivamente). En ese estudio también evaluaron los polimorfismos en pacientes con TDM, sin embargo los resultados no fueron significativos.

En un meta-analysis de GWAS encontraron una fuerte asociación del SNP rs1006737 en pacientes con TBP. Otro estudio reciente realizado en el 2013 (Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium) con una muestra considerablemente amplia se identificó el polimorfismo rs1024582 como factor de riesgo para TBP en población Europea.⁵¹

Existe evidencia de que anomalías en la morfología y en la función de la corteza prefrontal ventral y la amígdala están involucradas en el TBP, el gen *CACNA1C* también se ha relacionado con el desarrollo y la plasticidad de la estructura y función de la corteza frontotemporal. En un estudio realizado por Wang et al. (2011), evaluaron la asociación entre el polimorfismo rs1006737 con la morfología y la funcionalidad del sistema frontotemporal, encontraron que el grupo GG comparado con AG/AA mostró un incremento significativo en el volumen de la sustancia gris y disminución en la conectividad funcional del sistema límbico cortical frontotemporal, no encontraron diferencia significativa en edad y sexo entre los grupos GG, AG, AA.⁵²

Perrier et al. (2011) evaluaron el papel del *CACNA1C* en la morfología cerebral subcortical en pacientes con TBP, encontrando que los genotipos (AA/AG) de rs1006737 mostraron un incremento mayor en el volumen de la sustancia gris en la amígdala derecha y el hipotálamo derecho comparado con los portadores del genotipo GG.⁵³

Un estudio realizado por Tristram et al, donde se evaluaron las variantes genéticas del *CACNA1C* en pacientes con TBP y síntomas psicóticos, encontraron, se encontró una asociación significativa con el alelo A del SNP rs1006737 ($p=0.017$) en pacientes con antecedente de síntomas psicóticos.⁴⁰

González et al. (2013), realizaron un estudio de 215 familias en población latina (EUA, México, Guatemala y Costa Rica) evaluando la asociación entre haplotipos del gen *CACNA1C* y pacientes con TBP. Se analizó los SNPs rs1006737 y rs7297582, individualmente no encontrándose asociación significativa, por lo cual decidieron realizar el estudio de haplotipos, constituido por ocho locus (rs4765905, rs1006737, rs2159100, rs4765905, rs2370413, rs7297582, rs758170 y rs1860002) identificando una fuerte evidencia de asociación en pacientes portadores del haplotipo GAAGGAAG.⁵⁴

2. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades psiquiátricas tiene una prevalencia acumulada del 10% en la población adulta; y seis de cada 20 mexicanos, han presentado trastornos psiquiátricos alguna vez en la vida según la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica. El Trastorno Bipolar (TBP) es una enfermedad mental común, crónica que afecta la vida y la funcionalidad de millones de individuos a lo largo del mundo, es un problema de salud pública. La prevalencia mundial de TBP de acuerdo a la Organización mundial de la Salud es del 1% en la población general.^{1,2}

La etiología del TBP aún no está claramente establecida; sin embargo, en años recientes se ha avanzado en el entendimiento de circuitos neuronales involucrados, como se ha mencionado con anterioridad la heredabilidad del trastorno se ha estimado entre el 80 y

90%. Esto es lo que ha llevado a muchos esfuerzos por localizar e identificar las variantes genéticas involucrados con su desarrollo.³⁶

Existe evidencia que apoya que el gen *CACNA1C* está involucrado en el desarrollo del TBP, diferentes estudios que reportan que el *CACNA1C* juega un papel importante en el desarrollo dendrítico, supervivencia neuronal, plasticidad neuronal y en la memoria/aprendizaje. Estudios de variantes genéticas muestran que este gen está involucrado en el procesamiento emocional en áreas temporales mediales, que se asocia a un mayor riesgo de desarrollar TBP, esto a su vez sugiere que la disfunción en los canales de calcio puede contribuir en parte a la etiología genética del TBP a través de alteraciones en la actividad funcional de estos circuitos cerebrales.

Estudios de asociación de genoma completo (GWAS) han reportado asociación con diversos SNPs del gen en pacientes con TBP, en su mayoría estudios realizados en Europa, únicamente se cuenta con un estudio en población latina donde se incluyeron algunos pacientes mexicanos; sin embargo, no fue en su mayoría, por lo cual es importante replicar estos hallazgos, ya que pueden diferir de los obtenidos en poblaciones distintas.^{35, 45-50}

Si a este vacío de conocimiento sumamos el hecho de que se ha observado un incremento importante de los trastornos psiquiátricos en los últimos años, permite suponer que la salud mental es problema de salud pública, por lo que resulta básico ampliar los conocimientos en el área.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe asociación entre los polimorfismos rs1006737 y rs2370413 del gen *CACNA1C* y el TBP en una muestra clínica mexicana?

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Identificar si existe una asociación entre los polimorfismos rs1006737 y rs2370413 del gen CACNA1C y TBP en población mexicana.

4.2 Objetivos Específicos

1. Identificar la frecuencia de alelos de los polimorfismos rs1006737 y rs2370413 del gen CACNA1C en pacientes con TBP comparado con un grupo de controles sanos.
2. Analizar las características clínicas asociadas a los polimorfismos rs1006737 y rs2370413 del gen CACNA1C en una muestra de pacientes con trastorno bipolar.
3. Realizar un análisis por haplotipos de las dos regiones del gen CACNA1C y el TBP y analizar la asociación con las variables clínicas de la muestra de pacientes con TBP.

5. HIPÓTESIS

Existe una asociación entre variantes del polimorfismo rs1006737 y rs2370413 del gen CACNA1C y el TBP en una muestra clínica de pacientes mexicanos.

6. PARTICIPANTES

6.1 Población clínica

-Pacientes con diagnóstico de Trastorno Bipolar mediante los criterios del DSMIV versión TR, obtenidos de Consulta Externa del Instituto Nacional de Psiquiatría “Ramón de la Fuente Muñiz” (INPRF)

-El cálculo del poder del tamaño de la muestra fue realizado mediante el programa Quanto versión 1.2.3, tomando en cuenta un modelo de herencia aditivo y una MAF del 0.30 para una prevalencia de la enfermedad del 1% dio un poder estadístico de $\beta=0.83$ para un tamaño de muestra de 100 pacientes.

6.1.1 Criterios de inclusión:

- Pacientes con diagnóstico de Trastorno Bipolar tipo I según criterios de DSM-IV-TR que acudan al servicio de consulta externa INPRF.
- Edad de 18 a 65 años.
- Se considerará al paciente y dos generaciones arriba del mismo cuya nacionalidad sea mexicana.
- Aceptar participar en el estudio de forma voluntaria través de la firma de carta de consentimiento informado.

6.1.2 Criterios de exclusión:

- Comorbilidad con diagnóstico en eje II.
- Pacientes con síntomas psicóticos o afectivos secundarios a una causa médica.

6.1.3 Criterios de eliminación:

- Pacientes que deseen abandonar el estudio por voluntad propia.

6.2 Grupo control

-100 sujetos control del banco de DNAg del departamento de Genética Psiquiátrica, a los cuales se les aplicó el inventario de síntomas SCL-90 para descartar patología psiquiátrica.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Diseño del estudio

Se acuerdo a la clasificación de Feinstein el diseño del estudio es: comparativo, transversal, prolectivo, homodémico.

De acuerdo a la metodología genética, corresponde a un estudio de casos y controles.

7.2 Definición conceptual y operacional de las principales variables

<u>Variable</u>	<u>Naturaleza</u>	<u>Escala de medición</u>	<u>Categoría/clase</u>
Sexo	Categórica	Nominal	Femenino. Masculino.
Edad en años cumplidos.	Cuantitativa discreta	Dimensional	Años.
Escolaridad	Cuantitativa discreta	Dimensional	Número de años de estudio.
Situación Laboral	Categórica	Nominal	Trabajo remunerado. Trabajo no remunerado. No trabaja, remunerado. No trabaja, remunerado.
Estado civil	Categórica	Nominal	Con pareja Sin Pareja
Edad de inicio.	Cuantitativa discreta	Dimensional	Edad del primer episodio
Número de episodios depresivos previos.	Cuantitativa discreta.	Dimensional	1,2,3...
Número de episodios de manía previos.	Cuantitativa discreta.	Dimensional	1,2,3...
Numero de episodios de hipomanía previos	Cuantitativa discreta.	Dimensional	1,2,3...
Antecedente de síntomas psicóticos.	Categórica	Dicotómica	SI/NO
Polimorfismo rs1006737	Categórica	Dicotómica	Genotipificación.
Polimorfismo rs2370413	Categórica	Dicotómica	Genotipificación.

Instrumentos de medición

Entrevista Clínica Estructurada para los Trastornos del Eje I del DSM-IV (SCID-1).

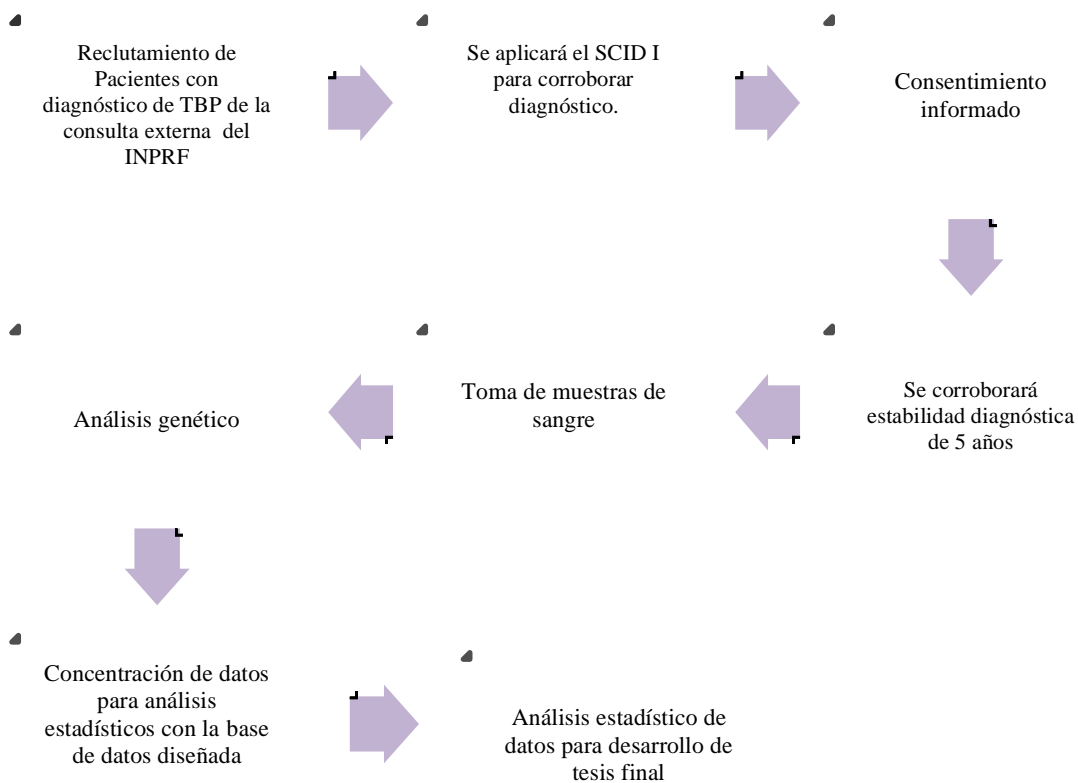
Entrevista estructurada para realizar diagnósticos de la mayoría de los trastornos clínicos del eje I del DSM-IV. Fue desarrollada por Spítzer e incluye información demográfica, historia laboral, motivo de la consulta, historia del presente y periodos pasados de enfermedad psiquiátrica, historia del tratamiento, evaluación del funcionamiento actual y preguntas abiertas. Incluye nueve módulos diagnósticos: episodios afectivos, síntomas psicóticos, diferencial para síntomas psicóticos, diferencial para trastornos afectivos, uso de sustancias, ansiedad, trastornos somatomorfos, trastornos de la alimentación trastornos de adaptación. El investigador puede escoger eliminar módulos para enfocarse solamente a las áreas de mayor interés diagnósticos. Existen dos versiones: una para investigación y otra para el clínico. La que se utiliza por el clínico incluye solamente los diagnósticos que se ven más frecuentemente en la práctica clínica. Incluye un módulo simplificado de trastornos del estado de ánimo y de uso de sustancias. En la versión del clínico los criterios de calificación son presente, ausente, subumbral o con información existente. Los diagnósticos se hacen en la vida y actuales. Tiene buena confiabilidad para la mayoría de los trastornos del DSM-IV. La confiabilidad en muestra de pacientes fue de 0.61, fue excelente para diagnóstico de TBP ($\kappa=0.84$). La carencia de estándares de oro en psiquiatría ha conducido a pocos estudios de valides de este instrumento, sin embargo la confiabilidad inter observador y prueba re prueba ha sido adecuada.⁵⁵

7.3 Obtención de la muestra y procedimientos.

Para llevar a cabo este proyecto de investigación se llevó a cabo el reclutamiento de pacientes en la consulta externa del INPRF con diagnóstico de trastorno bipolar que cumplan los criterios de inclusión. Posterior a la valoración inicial por parte de su médico tratante, los pacientes fueron invitados a participar en el estudio. Se informó al paciente respecto a los objetivos y procedimientos del estudio y se les entregó el consentimiento informado mismo que fue revisado con él paciente y se aclararon las dudas existentes, se incluyeron solo a aquellos pacientes que desearon participar, el estudio no generó ningún costo a los pacientes. En forma previa a la inclusión al estudio se corroboró el diagnóstico

mediante la aplicación del SCID-1 que tiene una duración aproximada de 60 minutos, también se recolectó información respecto a las variables sociodemográficas (edad, sexo, estado civil, ocupación), con un tiempo aproximado de evaluación total de 90 minutos. Se tomó una muestra de sangre, misma que se utilizó para la realización del estudio genético. Se compararon los pacientes contra controles.

7.4 Flujograma



7.5 Análisis genético

- Extracción de ADN genómico de los pacientes con Trastorno bipolar, realizando toma de 5ml de sangre periférica, usando el kit de extracción Genomic DNA purification de Fermentas.

- El DNA genómico de la muestra control fue obtenido mediante el método de Lahiri y se encuentra almacenado a 4°C en un buffer TE en el Departamento de Genética.
- Análisis de los polimorfismos.
- La genotipificación de las regiones se realizó mediante el método de discriminación alélica con sondas TaqMan. El volumen final de la reacción fue de 5 ml y tuvo las siguientes condiciones de reacción: 20 ng of genomic DNA, 2.5 µL de TaqMan Master Mix, y 0.125 µL de 20x de las sondas “Assay made to order”. La amplificación se llevó a cabo con el equipo 7500 real time PCR system with SDS v2.1 software (Applied Biosystems). El análisis mediante discriminación alélica se realizó mediante la identificación estandarizada de cada uno de los genotipos para cada región analizada.

7.6 Análisis estadístico

La recolección de datos se archivó en una base Excel® para el análisis según el paquete estadístico SPSS®.

La descripción de las características demográficas y clínicas incluye frecuencias y porcentajes para las variables categóricas, y promedios y desviaciones estándar (DE) para las variables continuas.

Para prueba de hipótesis en la comparación de los distintos grupos se utilizó la Chi Cuadrada (χ^2) para contrastes categóricos y la t de Student para contrastes continuos. Los genotipos de los grupos de TBP analizados mediante la prueba de χ^2 en las tablas de contingencias, utilizando el programa estadístico Tadpole versión 1.2.

El análisis de los haplotipos se realizó mediante el programa estadístico THESIAS (*Testing Haplotype Effects In Association Studies*), que realiza un análisis del efecto de cada haplotipo sobre fenotipos cualitativos y cuantitativos. Se llevó a cabo el análisis de la edad de inicio, subtipo de TBP, número de episodios depresivos/maniacos/hipomaniacos y el antecedente de síntomas psicóticos.

8. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio se realizó de acuerdo a los principios generales estipulados en declaración de Helsinki (Asociación Médica Mundial 2008). A todos los sujetos y familiares se les solicitó consentimiento informado, mismo en el que se brinda la explicación del estudio, ante dos testigos y el médico responsable, se otorgó una copia al paciente. El no participar en el proyecto no excluye al paciente de recibir la atención médica necesaria y si se retira del mismo, no afectará esa decisión su tratamiento en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Los datos generados en la investigación serán utilizados únicamente con fines científicos (Diario Oficial de la Federación 1983) y no se les dará otro uso, salvo autorización escrita y expresa de los pacientes y de los comités antes mencionados, guardando la absoluta confidencialidad de los pacientes que accedan a participar, durante la investigación se omitieron en las bases de datos los nombres de los pacientes ya que se asignó un código secuencial para el análisis estadístico.

Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud. Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección I. En acuerdo a esta ley es un estudio con riesgo mínimo, ya que en los que catalogan de este tipo se incluyen estudios que realicen exámenes psicológicos de diagnóstico y extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 ml. en dos meses, excepto durante el embarazo, ejercicio moderado en voluntarios sanos; procedimientos que forman parte de la metodología de este estudio.

Se considera que la posibilidad de complicaciones es mínima y serían relacionadas a la toma de muestras de sangre venosa, entre estas está infección en sitio de punción y perforación de la vena.

En caso de aquellos pacientes que por alguna razón sean excluidos del estudio, se procederá a destruir el material genético de los mismos.

9. RESULTADOS

9.1 Variables sociodemográficas y clínicas de la muestra.

La muestra consistió en 91 pacientes con diagnóstico de trastorno bipolar tipo I, los cuales en su mayoría fueron mujeres (68.1% vs 31.9%), con una edad promedio de 41.9 ± 12.4 , el promedio de años de escolaridad fue de 13.9 ± 3.5 , al momento del estudio, el 56% se encontraba sin pareja y el 50.5% de los pacientes refirió tener un trabajo remunerado (Tabla 1).

Tabla 1. Características sociodemográficas de la muestra.

Características Sociodemográficas		n (%)
SEXO	Femenino	62 (68.1%)
	Masculino	29 (31.9%)
ESTADO CIVIL	Con pareja:	40 (44%)
	Sin pareja:	51 (56%)
SITUACIÓN LABORAL	Trabajo remunerado	46 (50.5%)
	Trabajo no remunerado	24 (26.4%)
	No trabaja, remunerado	2 (2.2%)
	No trabaja, no remunerado	10 (20.9%)
RELIGIÓN	Católica	62 (68.1%)
	Otra	18 (19.8%)
	Ninguna	11 (12.1%)
EDAD	(promedio \pmDE)	41.9 ± 12.4
AÑOS DE ESCOLARIDAD	(promedio \pmDE)	13.9 ± 3.5

El 55.3% de los pacientes reportó una comorbilidad médica no psiquiátrica, la más frecuente fue hipotiroidismo (22 casos), seguida por dislipidemia (25 casos) y diabetes mellitus tipo 2 (12 casos).

Se encontraron antecedentes familiares de cualquier patología psiquiátrica en el 84.6% de los casos. El 20.8% (19) tenía antecedentes familiares de enfermedades psiquiátricas con presencia de síntomas psicóticos. Específicamente hablando de antecedentes familiares de TBP fue positivo en 28 pacientes (30.7%), en 12 pacientes eran familiares de primer grado.

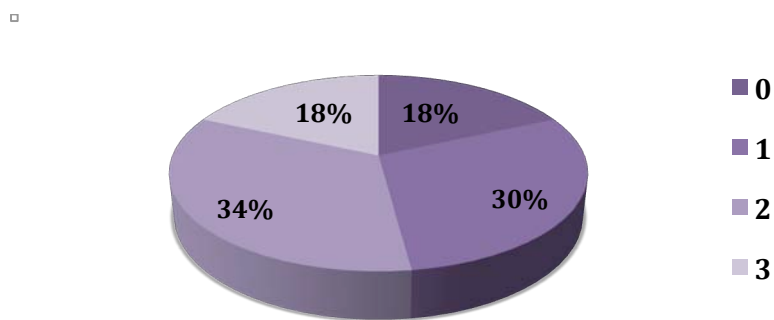
En el caso de antecedentes de Trastorno depresivo mayor, fue positivo en 41.7% (38) de los pacientes, en 23 casos eran familiares de primer grado. El antecedente familiar de esquizofrenia fue positivo en 17 pacientes (18.6%). Solo un paciente tenía antecedente de un familiar de primer grado con trastorno esquizoafectivo.

Entre otros antecedentes familiares de importancia se encontró que el 6.4% (15) de los pacientes tenía familiares con antecedente de intentos suicidas y 6.5% (6) antecedente de familiares finados por suicidio.

En cuanto a las características clínicas de los pacientes con TBP, se encontró que la edad de inicio fue en promedio de 23.2 ± 9.2 años, el tiempo de evolución del trastorno fue en promedio de 18.7 ± 10.9 años.

Los pacientes en promedio han presentado 2.3 ± 1.9 episodios depresivos; 21 pacientes (23%) han presentado episodios depresivos con síntomas psicóticos. En las mujeres se encontró que 9.6% tuvieron un episodio depresivo postparto. En la figura 1 se muestra el número de episodios depresivos.

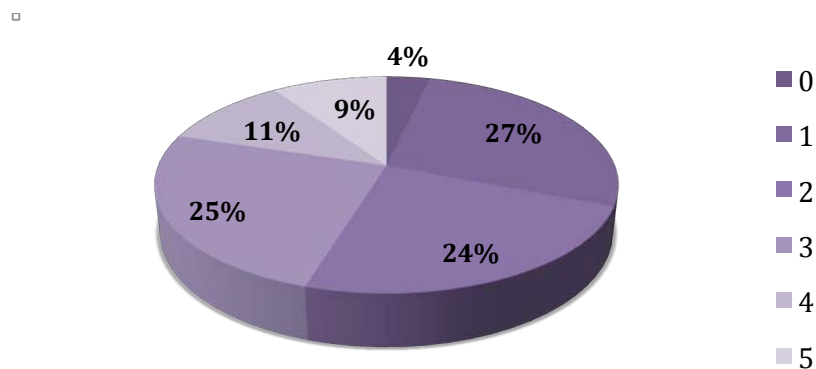
Figura 1. Número de episodios depresivos.



De los pacientes el 40.6% (37) ha presentado algún episodio de hipomanía a largo de la enfermedad, lo más frecuente fue la presencia de un episodio (23 pacientes), únicamente en un paciente se documentó la presencia de 4 episodios.

Se encontró que en promedio los pacientes han presentado 2.7 ± 1.6 episodios de manía, en la figura 2 se muestra la frecuencia de los episodios de manía. El 85.7% (78) ha presentado por lo menos un episodio de manía con síntomas psicóticos, lo más frecuente fue que tuvieran 1 (34 pacientes) o 2 (20 pacientes) episodios de manía con síntomas psicóticos, en un paciente se reportó la presencia de 8 episodios de manía con síntomas psicóticos (Figura 2).

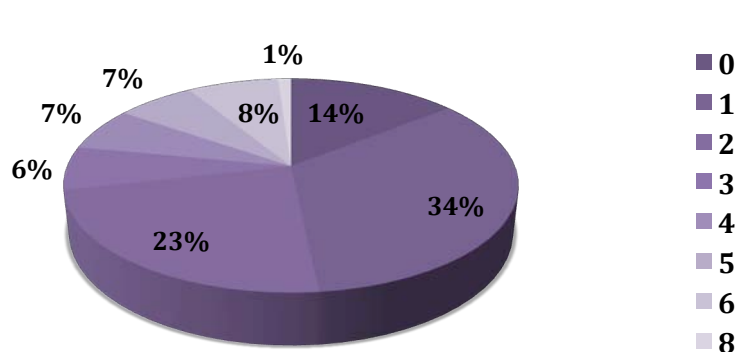
Figura 2. Frecuencia de episodios de manía.



En cuanto a episodios mixtos, se reportaron en el 40.8% (29) de los pacientes, lo más frecuente era el antecedente de un episodio (21 pacientes), sin embargo se reportaron cuatro episodios en un paciente.

El 96.7% de los pacientes ha presentado síntomas psicóticos en algún momento de la enfermedad. El 85.7% (78) de los pacientes ha estado hospitalizado, se encontró que el 34% de los pacientes ha estado hospitalizado al menos una vez en un hospital psiquiátrico, únicamente el 14% no ha estado hospitalizado, sin embargo se encontró que algunos pacientes tenían entre 5 y 8 hospitalizaciones (Figura 3).

Figura 3. Frecuencia de hospitalizaciones.



En relación a otras comorbilidades psiquiátricas, el 34% (31) de los pacientes tiene algún trastorno de ansiedad, el más frecuente fue trastorno de ansiedad generalizada.

El 28.6% (26), tiene trastorno por uso nicotina, de ellos 17 tienen dependencia. En cuanto a otras sustancias 8 tienen trastorno por uso de cannabis, de estos 6 tienen dependencia. El 16.5% (15) tienen trastorno por uso de etanol, 8 tienen un patrón de abuso y 7 de dependencia.

Se encontró que el 58.2% (53) de los paciente ha experimentado ideación suicida, únicamente 9 pacientes han realizado algún gesto suicida, sin embargo el 29.6% (21) han tenido intento de suicida.

9.2 Análisis de asociación genética entre los pacientes con TBP y sujetos sanos.

La distribución de genotipos en la muestra de casos y controles del polimorfismo rs1006737 se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$). En el caso del polimorfismo rs2370413 los controles no estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg.

En el análisis estadístico, mediante chi cuadrada, de las frecuencias de genotipos y alelos por regiones, respecto a pacientes con trastorno bipolar vs controles sanos, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa respecto a la frecuencia de genotipos en el polimorfismo rs1006737, el genotipo más frecuente fue el GG tanto en los casos como en controles. Para el rs2170413 se encontró asociación significativa entre portación mayor del genotipo CT en los pacientes con trastorno bipolar en comparación con controles sanos, el genotipo TT se encontró en menor frecuencia en pacientes con trastorno bipolar, también fue estadísticamente significativo; sin embargo, como se mencionó previamente los controles no estuvieron en equilibrio.

Por otro lado, al realizar el análisis por frecuencia alélica, no se encontraron diferencias significativas en las regiones estudiadas (Tabla 2).

Tabla 2. Frecuencia de genotipos y alelos de los polimorfismos estudiados en pacientes con TBP y controles sanos.

Polimorfismo rs1006737	Frecuencias por genotipo			Frecuencias alélicas	
	GG	GA	AA	G	A
TBP (n=91)	40 (0.44)	35 (0.38)	16 (0.18)	115 (0.63)	67 (0.37)
Controles (n=98)	47 (0.48)	44 (0.45)	7 (0.07)	138 (0.70)	58 (0.30)
$X^2 = 4.9, \text{gl} = 2, p = 0.08$			$X^2 = 2.2, \text{gl} = 1, p = 0.13$		
Polimorfismo rs2370413	Frecuencias por genotipo			Frecuencias alélicas	
	CC	CT	TT	C	T
TBP (n=91)	33 (0.36)	53 (0.58)	5 (0.06)	119 (0.65)	63 (0.35)
Controles (n=100)	34 (0.34)	49 (0.49)	17 (0.17)	117 (0.59)	83 (0.41)
$X^2 = 6.7, \text{gl} = 2, p = 0.03$			$X^2 = 1.9, \text{gl} = 1, p = 0.16$		

rs1006737: Casos: EH-W: $X^2 = 2.7, \text{gl} = 1, p = 0.098$ Controles: EH-W: $X^2 = 0.73, \text{gl} = 1, p = 0.389$

rs2370413: Casos: EH-W: $X^2 = 7.4, \text{gl} = 1, p = 0.006$ Controles: EH-W: $X^2 = 0.008, \text{gl} = 1, p = 0.926$

Se realizó el análisis por portadores del alelo de riesgo, para el polimorfismo rs1006737, se encontró una asociación significativa entre los no portadores de G (genotipo AA) y el trastorno bipolar, identificándose un riesgo tres veces mayor de desarrollar trastorno bipolar (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis por portadores del alelo de riesgo del polimorfismo rs1006737 en pacientes con TBP y controles sanos.

Grupo	Portadores de G	No portadores de G
TBP (n=91)	75 (0.82)	16 (0.18)
Controles (n=98)	91 (0.93)	7 (0.07)
$X^2= 4.9$, gl= 1, p= 0.03; OR 2.8, IC 95% (1.1-6.9)		

En relación al rs2370413, se encontró una mayor portación del alelo C en pacientes con TBP, comparado con el grupo control, siendo estadísticamente significativo; sin embargo es un dato que deberá tomarse con cautela debido a que los controles no estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis por portador de alelos de riesgo del polimorfismo rs2370413 en pacientes con TBP y controles sanos.

Grupo	Portadores de C	No portadores de C
TBP (n=91)	86 (0.95)	5 (0.05)
Controles (n=100)	83 (0.83)	17 (0.17)
$X^2= 6.5$, gl= 1, p= 0.01		

9.3 Análisis de los polimorfismos rs1006737 y rs2370413 del CACNA1C y características clínicas del trastorno bipolar.

Al realizar el análisis de las características clínicas por genotipos y alelos de riesgo, no se encontraron diferencias significativas.

Para saber si existía alguna asociación entre los dos polimorfismos en estudio del gen CACNA1C y las características clínicas, se realizó el análisis estadístico mediante una t-Student, de los alelos de interés de cada región por separado.

En el análisis estadístico entre los pacientes portadores y no portadores de alelo G y su asociación con algunas características clínicas, mostró únicamente una asociación significativa de los no portadores del alelo G con una presencia mayor de episodios de hipomanía, mostrando que ser portador del alelo G se encuentra relacionado con un menor número de episodios de hipomanía. (Tabla 5)

Tabla 5. Análisis por portador de alelo G del rs1006737 y características clínicas de 91 pacientes con trastorno bipolar.

Características clínicas	Portadores de G (n=75)	No Portadores de G (n=16)	T de Student	Valor de p
Edad de inicio	23.1 ± 9.6	24.1 ± 7.3	-0.4	0.70
Tiempo de evolución	18.4 ± 10.4	19.7 ± 13.5	-0.4	0.66
No. EDM ¹ sin síntomas psicóticos	2.2 ± 1.8	2.7 ± 2.3	-0.8	0.4
No. EDM ¹ con síntomas psicóticos	0.3 ± 0.6	0.2 ± 0.6	0.3	0.78
Total de EDM ¹	2.6 ± 1.9	3.1 ± 2.1	-0.8	0.41
Total hipomanías	0.6 ± 0.8	1.1 ± 1.2	-2.2	0.03
Manías sin síntomas psicóticos	0.8 ± 1.2	1.2 ± 1.7	-1.2	0.23
Manías con síntomas psicóticos	1.8 ± 1.4	1.6 ± 1.1	0.6	0.54
Total de Manías	2.7 ± 1.6	2.9 ± 1.9	-0.5	0.65
Total de Episodios mixtos	0.5 ± 0.9	0.3 ± 0.6	0.8	0.42
Total de Episodios psicóticos	2.3 ± 1.4	2 ± 1.2	0.9	0.34
Antecedente de ideación suicida	1.4 ± 0.5	1.6 ± 0.5	-1.3	0.2
Antecedente de intento suicida	1.8 ± 0.4	1.7 ± 0.4	0.2	0.84

¹ Episodio depresivo mayor

Al realizar en análisis por portadores y no portadores del alelo C del rs2370413, se encontró una asociación significativa de los portadores de C con un mayor número de episodios mixtos..(Tabla 6).

Tabla 6. Análisis por portador de alelo C del rs2370413 y características clínicas de 91 pacientes con trastorno bipolar.

Características clínicas	Portadores de C (n=75)	No Portadores de C (n=16)	T de Student	Valor de p
Edad de inicio	23.1 ± 8.9	25 ± 14.3	-0.4	0.66
Tiempo de evolución	18.4 ± 11	21.8 ± 10.3	-0.6	0.51
No. EDM sin síntomas psicóticos	2.3 ± 1.9	2 ± 1.6	-0.4	0.69
No. EDM con síntomas psicóticos	0.3 ± 0.6	0	01.1	0.24
Total de EDM	2.7 ± 1.9	2.2± 1.6	0.6	0.55
Total hipomanías	0.6 ± 1	0.4 ± 0.9	0.6	0.53
No. Manías sin síntomas psicóticos	0.9 ± 1.3	0.8 ± 0.8	-0.1	0.85
No. Manías con síntomas psicóticos	1.7 ± 1.3	1.8 ± 1.1	-0.1	0.92
Total de Manías	2.7 ± 1.7	3 ± 1.6	-0.4	0.68
Total de Episodios mixtos	0.5 ± 0.8	0	5.4	0.00
Total de Episodios con síntomas psicóticos	2.3 ± 1.4	1.8 ± 1.1	0.8	0.4
Antecedente de ideación suicida	1.4 ± 0.5	1.6 ± 0.5	-0.8	0.4
Antecedente de intento suicida	1.8 ± 0.4	2 ± 0	-1.2	0.21

1 Episodio depresivo mayor

10.4 Análisis por haplotipos de los dos polimorfismos rs1006737 y rs2370413 y su asociación con características clínicas del trastorno bipolar.

Uno de los objetivos del presente estudio era realizar el análisis estadístico de haplotipos conformados por los polimorfismos rs1006737 y rs2370412. El análisis del desequilibrio de enlace entre las dos regiones, en los casos se encontró con un valor de $D=0.658$ y $r^2=0.134$. Con respecto a los controles, se encontró un valor de $D=0.054$ y $r^2=0.002$, lo cual nos indica que no se encuentran ligadas y por lo tanto no se pudo llevar a cabo el análisis.

10. DISCUSIÓN

El trastorno bipolar es un trastorno psiquiátrico clínica y genéticamente complejo, es heterogéneo y se ha sugerido una asociación entre la presentación clínica y los factores genéticos. Su patogenia es desconocida y hasta el momento no existen marcadores biológicos convincentes de suficiente sensibilidad y especificidad.^{16,17,18} Es por esto que el diagnóstico es básicamente clínico, se basa en los signos y síntomas que se presentan.^{4,6}

Se ha reportado que la prevalencia del trastorno bipolar tipo I es prácticamente la misma en hombres como entre mujeres, en el caso de nuestra muestra de pacientes hubo un predominio de más del 60% de mujeres. En relación a la edad de inicio promedio del trastorno en los pacientes participantes se encontró dentro del grupo de edad reportado en la literatura (entre los 20 y 30 años).^{7,8}

La edad de inicio de este trastorno es durante etapas tempranas y la evolución puede ser muy variable, lo que se refleja en diversas situaciones como la escolaridad, en el caso de nuestros pacientes el promedio de los años de escolaridad corresponde a un nivel medio y superior.^{3,11} El 56% de los pacientes no tenían pareja, llama la atención que más del 50% de los pacientes reportaron tener un trabajo remunerado, sin embargo no se evaluó el tipo de empleo y la duración en el mismo, así como su relación con el estado afectivo en el que se encontraba el paciente, esto sería importante para considerar el funcionamiento psicosocial interepisódico ya que se ha reportado que es pobre entre el 30 y 60% de los pacientes.^{10,14-16}

Estudios en familias, adopción y gemelos han señalado que el trastorno bipolar es altamente familiar y que depende en gran manera de influencias genéticas.^{35,36} En los pacientes estudiados se encontró que el 12% tenía antecedente de un familiar de primer grado con trastorno bipolar, por otro lado es importante señalar que el 20% de tenía el antecedente de algún familiar con algún trastorno psiquiátrico con presencia de síntomas psicóticos, lo que también se ha reportado en la literatura.

Se sabe que entre las comorbilidades que se asocian con mayor frecuencia al trastorno bipolar se encuentran los trastornos de ansiedad y los trastornos por uso de sustancias⁴, esto fue similar en nuestra muestra, la comorbilidad más frecuente fueron los trastornos de ansiedad. La nicotina fue la sustancia más utilizada por los pacientes.

Otro dato relevante en relación al trastorno bipolar es que se ha reportado una alta prevalencia de intentos suicidas a los largo de la vida, de hasta un 35%, nuestros resultados coinciden con lo reportado, en nuestra muestra casi el 30% tenía antecedente de algún intento suicida y más del 50% ha experimentado ideación suicida en algún momento de la vida.^{3,9}

Como se mencionó previamente diferentes estudios han mostrado un componente sustancial genético en el trastorno bipolar, diversos estudios se han realizado en los últimos años con la finalidad de identificar variantes genéticas que contribuyan a su etiología.^{35,36} Diferentes GWAS han identificado una asociación entre el rs1006737 del gen CACNA1C y el riesgo de trastorno bipolar, principalmente en estudios realizados en Europa; sin embargo, esta asociación no ha sido consistente.⁵⁰⁻⁵³ Green et al, asoció el alelo A de este polimorfismo con un mayor riesgo de TBP, así como con mayor riesgo de presentar episodios depresivos. En un estudio de familias latinas realizado por González et al. en 2013, no se asoció este polimorfismo. En nuestros pacientes no se encontró asociación significativa por genotipos, ni por frecuencias alélicas del rs1006737 y el trastorno bipolar comparado con el grupo control; sin embargo se encontró asociación significativa en los no portadores de G, es decir los portadores del genotipo AA, los cuales tuvieron un riesgo tres veces mayor de presentar trastorno bipolar en comparación con los portadores de GG y GA, similar a lo reportado por Green et al.⁵⁶

Debido a que el trastorno bipolar es un trastorno heterogéneo, resulta importante el análisis de características particulares que nos ayuden a tener subgrupos más homogéneos. De tal manera, se analizaron algunas características clínicas como sexo, edad de inicio del padecimiento, tiempo de evolución, número de episodios depresivos, episodios de hipomanía, episodios de manía, episodios mixtos, tiempo de evolución del trastorno, ,

antecedente de ideación suicida y de intentos suicidas, sin embargo al realizar en análisis por genotipo en ambos polimorfismos no se encontró asociación estadísticamente significativa.

Debido a la asociación que se encontró de un mayor riesgo de trastorno bipolar en los no portadores de G (AA), se realizó en análisis entre portadores de alelo de riesgo y las características clínicas estudiadas, y se encontró que los pacientes no portadores de G presentaban un mayor número de episodios de hipomanía. El análisis de edad de inicio, tiempo de evolución, episodios depresivos, episodios de manía, antecedente de intento o ideación suicida no mostraron presencia de asociación. De tal manera, estos hallazgos no han sido analizados en ninguna otra muestra reportada hasta la fecha.

Hasta nuestro conocimiento, el polimorfismo rs2370413 no ha sido estudiado en pacientes con trastorno bipolar. Los resultados muestran que el genotipo CT presentó una frecuencia alta, del 58%, comparado con el grupo control, lo cual fue estadísticamente significativo, indicando presencia de asociación. Del mismo modo, resulta interesante observar que los pacientes con TBP presentan una menor frecuencia del genotipo TT. Al realizar el análisis por portación del alelo de riesgo, se encontró que los pacientes con TBP presenta una mayor portación del C comprado con el grupo control, siendo estadísticamente significativo. Sin embargo, este resultado debe tomarse con cautela ya que no se encontró en equilibrio de Hardy Weinberg. Por lo anterior es importante en un futuro realizar nuevos estudios con un mayor número de muestra.

11. CONCLUSIONES

- Los resultados en el presente estudio replican los hallazgos de asociación entre el gen CACNA1C y el trastorno bipolar.
- Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el genotipo AA del polimorfismo rs1006737 en pacientes mexicanos con trastorno bipolar.
- Los pacientes portadores del genotipo AA del polimorfismo rs1006737 presentan un riesgo casi tres veces mayor de desarrollar trastorno bipolar en comparación con el grupo control.
- Los pacientes con TBP portadores del genotipo AA presentan un mayor número de episodios de hipomanía.
- El análisis del rs2370413 en pacientes con trastorno bipolar, mostró una mayor frecuencia del genotipo CT en comparación con una muestra control.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. World Health Organization. The global burden of disease: 2004 update. World Health Organization. Geneva: 2008.
2. Medina-mora M, Borges G, Muñoz CL, Benjet C, Jaimes JB, Bautista CF, et al. Resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México. *Salud Mental* 2003; 26(4):1–16.
3. Ehnvall A, Agren H. Patterns of sensitisation in the course of affective illness. A life-charting study of treatment-refractory depressed patients. *J. Affect* 2002;70(1):67–75.
4. Ghaemi S, Bauer M, Cassidy F, Malhi GS, Mitchell P, Phelps J, et al. Diagnostic guidelines for bipolar disorder: a summary of the International Society for Bipolar Disorders Diagnostic Guidelines Task Force Report. *Bipolar Disord* 2008; 10(1):117–28.
5. Dunner D, Fieve R. Clinical factors in lithium carbonate prophylaxis failure. *Arch Gen Psychiatry* 1974; 30(2):229-233.
6. López-Ibor J, Valdez M. DSM-IV-TR. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Texto revisado. 4ed. Masson: Barcelona; 2002.
7. Angst J, Sellaro R. Historical perspectives and natural history of bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 2002; 48(6):445-457.
8. O'Mahony E, Corvin A, O'Connell R, Comerford C, Larsen B, Jones R et al. Sibling pairs with affective disorders: resemblance of demographic and clinical features. *Psychol Med* 2002; 32: 55–61.
9. Duffy A, Alda M, Hajek T, Grof P. Early course of bipolar disorder in high risk offspring: prospective study. *Br J Psychiatry* 2009; 195(5):457-458.
10. Berk M. Neuroprogression: pathways to progressive brain changes in bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 2009; 12(4):441 445
11. Colom F, Vieta E, Daban C, Pacchiarotti I, Sánchez Moreno J. Clinical and therapeutic implications of predominant polarity in bipolar disorder. *J Affect Disord* 2006; 93(3):13-17.
12. Kassem L, Lopez V, Hedeker D, Steele J, Zandi P, McMahon FJ. Familiarity of polarity at illness onset in bipolar affective disorder. *Am. J. Psychiatry* 200; 163(10):1754–9.
13. Kawa I, Carter J, Joyce P, Doughty C, Frampton C, Wells J, et al. Gender differences in bipolar disorder: age of onset, course, comorbidity, and symptom presentation. *Bipolar Disord* 2005; 7(2):119–25.
14. Judd L, Schettler P, Akiskal H, Coryell W, Leon A, Maser J et al. Residual symptom recovery from major affective episodes in bipolar disorders and rapid episode relapse/recurrence. *Arch Gen Psychiatry* 2008; 65(4):386-394.
15. Rosa A, Reinares M, Franco C, Comes M, Torrent C, et al. Clinical predictors of functional outcome of bipolar patients in remission. *Bipolar Disord* 2009; 11(4):401-409.
16. MacQueen G, Hajek T, Alda M. The phenotypes of bipolar disorder: relevance for genetic investigations. *Mol. Psychiatry* 2005; 10(9):811–26.
17. Drevets W. Neuroimaging studies of mood disorders. *Biol Psychiatry* 2002; 48:813-829.
18. Goodwin F, Jamison K. Manic depressive illness: bipolar disorders and recurrent depression, 2nd ed. Oxford University Press: Oxford; 2002.
19. Kato T. Molecular neurobiology of bipolar disorder: a disease of “mood-stabilizing neurons”? *Trends Neurosci.* 2008; 31(10):495–503.

20. Gray L, Dean B, Kronsbein H, Robinson P, Scarr E. Region and diagnosis-specific changes in synaptic proteins in schizophrenia and bipolar I disorder. *Psychiatry Research* 2010; 178(2): 374–380.
21. Eastwood S, Harrison P. Markers of glutamate synaptic transmission and plasticity are increased in the anterior cingulate cortex in bipolar disorder. *Biological Psychiatry* 2010; 67(11): 1010–1016.
22. Brambilla P, Perez J, Barale F, Schettini G, Soares J. GABAergic dysfunction in mood disorders. *Molecular Psychiatry* 2003; 8(8): 721–737.
23. Garakani A, Charney D, Anand A. Basic mechanisms and therapeutic implications. 2nd ed. Informa Healthcare: New York; 2007.
24. Stahl S. Signal transduction and the chemically addressed nervous system. In S. M. Stahl (Ed.), *Stahl's essential psychopharmacology. Neuroscientific basis and practical applications* (pp. 51–89). Cambridge University Press: Cambridge 2009.
25. Ceulemans S, De Zutter S, Heyrman L, Norrback F, Nordin A, Nilsson L, et al. Evidence for the involvement of the glucocorticoid receptor gene in bipolar disorder in an isolated northern Swedish population. *Bipolar Disorders* 2011; 13(8): 614–623.
26. Szczepankiewicz A, Leszczynska-Rodziewica A, Pawlak J, Rajewska-Rager A, Dmitrzak-Weglarczyk M, et al. Glucocorticoid receptor polymorphism is associated with major depression and predominance of depression in the course of bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders* 2011; 134(3): 138–144.
27. Fernandes B, Gama C, Ceresér K, Yatham L, Fries G, et al. Brain-derived neurotrophic factor as a state-marker of mood episodes in bipolar disorders: A systematic review and meta-regression analysis. *Journal of Psychiatric Research* 2011; 45(8): 995–1004.
28. Schloesser R, Huang J, Klein P, Manji H. Cellular plasticity cascades in the pathophysiology and treatment of bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33(1): 110–133.
29. Bezchlibnyk Y, Sun X, Wang J, MacQueen G, McEwen B, et al. Neuron somal size is decreased in the lateral amygdalar nucleus of subjects with bipolar disorder. *Journal of Psychiatry & Neuroscience* 2007; 32(3): 203–210.
30. Bora E, Fornito A, Yucel M, Pantelis. Voxelwise meta-analysis of gray matter abnormalities in bipolar disorder. *Biological Psychiatry* 2010; 67(11): 1097–1105.
31. Mahon K, Burdick K, Szeszko P. A role for white matter abnormalities in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 2010; 34(4): 533–554.
32. Arnone D, Cavanagh J, Gerber D, Lawrie S, et al. Magnetic resonance imaging studies in bipolar disorder and schizophrenia: Meta-analysis. *British Journal of Psychiatry* 2010; 195(3): 194–201.
33. Delvecchio G, Fossati P, Boyer P, Brambilla P, et al. Common and distinct neural correlates of emotional processing in bipolar disorder and major depressive disorder: A voxel-based meta-analysis of functional magnetic resonance imaging studies. *European Neuropsychopharmacology* 2012; 22(2): 100–113.
34. Robinson L, Ferrier I. Evolution of cognitive impairment in bipolar disorder: A systematic review of cross-sectional evidence. *Bipolar Disorders* 2006; 8(2): 103–116.
35. Craddock N, Sklar P. Genetics of bipolar disorder. *Lancet* 2013; 381(9878):1654–62.

36. MacQueen G, Hajek T, Alda M. The phenotypes of bipolar disorder: relevance for genetic investigations. *Mol. Psychiatry* 2005;10(9):811–26.
37. McGuffin P, Rijsdijk F, Andrew M, Sham P, Kets R, Cardno A. The heritability of bipolar affective disorder and the genetic relationship to unipolar depression. *Arch Gen Psychiatry*. 2003; 60:497-502.
38. Liu Y, Blackwood D, Caesar S, De Geus E, et al. Meta-analysis of genome-wide association data of bipolar disorder and major depressive disorder. *Mol. Psychiatry* 2011;16(1):2–4.
39. Barnett J, Smoller J. Review The Genetics of Bipolar Disorder. *Neuroscience* 2009; 164: 331-343.
40. Craddock N, O'Donovan MC, Owen MJ. Psychosis Genetics: Modeling the Relationship Between Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Mixed (or “Schizoaffective”) Psychoses. *Schizophr Bull* 2009; 35(3):482-490.
41. Baum A, Akula N, Cabanero M, et al. A genome-wide association study implicates diacylglycerol kinase eta (DGKH) and several other genes in the etiology of bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2008; 13: 197–207.
42. Scott L, Muglia P, Kong X, Guan W, et al. Genome-wide association and meta-analysis of bipolar disorder in individuals of European ancestry. *Proc Natl Acad Sci*. 2009;106:741-750.
43. Ferreira M, O'Donovan M, Meng Y, Jones I, Ruderfer D, et al. Collaborative genome wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nat Genet* 2008; 40:1056-1058.
44. Large-scale genome-wide association analysis of bipolar disorder identifies a new susceptibility locus near ODZ4. *Nat Genet* 2011; 43: 977–83.
45. Zündorf G, Reiser G. Calcium dysregulation and homeostasis of neural calcium in the molecular mechanisms of neurodegenerative diseases provide multiple targets for neuroprotection. *Antioxid Redox Signal* 2011;14(7):1275–88.
46. Clapham DE. Calcium signaling. *Cell* 2007;131(6):1047–58.
47. Warsh J, Andreopoulos S, Li P. Role of intracellular calcium signaling in the pathophysiology and pharmacotherapy of bipolar disorder: current status. *Clin. Neurosci. Res* 2004; 4(3):201–13.
48. Casamassima F, Hay A, Benedetti A, Lattanzi L, Cassano G, Perlis R. L-type calcium channels and psychiatric disorders: A brief review. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr. Genet* 2010;153(8):1373–90.
49. Bhat S, Dao D, Terrillion C, Arad M, et al. CACNA1C (Cav1.2) in the pathophysiology of psychiatric disease. *Prog Neurobiol* 2012; 99(1):1–14.
50. Kristin L, Bigos D; Venkata S. Mattay M, et al. Genetic Variation in CACNA1C Affects Brain Circuitries Related to Mental Illness. *Arch Gen Psychiatry*. 2010; 67(9):939-945.
51. Zhang X, Zhang C, Wu Z, Wang Z, et al. Association of genetic variation in CACNA1C with bipolar disorder in Han Chinese. *Affect Disord* 2013; 150(2):261-5.
52. Wang F, McIntosh A, He Y, Gelernter J, Blumberg H. The association of genetic variation in CACNA1C with structure and function of a frontotemporal system. *Bipolar Disord* 2011; 13(7):696–700.

53. Perrier E, Pompei F, Ruberto G, Vassos E, et al. Initial evidence for the role of CACNA1C on subcortical brain morphology in patients with bipolar disorder. *Eur Psychiatry* 2011; 26(3):135–7.
54. Gonzalez S, Xu C, Ramirez M, Zavala J, et al. Suggestive evidence for association between L-type voltage-gated calcium channel (CACNA1C) gene haplotypes and bipolar disorder in Latinos: a family-based association study. *Bipolar Disord* 2013; 15(2):206–14.
55. First M, Spitzer R, Gibbon M, Spitzer R, Williams J. Guía del usuario para la entrevista clínica estructurada para los trastornos del eje I del DSM-IV® SCID-I. 1999.
56. Green E, Grozeva D, Jones I, Kirov G, et al. The bipolar disorder risk allele at CACNA1C also confers risk of current major depression and of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2010; 15:1010-1022.

ANEXO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título de la investigación:

Estudio de asociación del gen CACNA1C (subunidad alfa 1C del canal de calcio ligado a voltaje tipo-L) y el trastorno bipolar en población mexicana.

El trastorno bipolar es una enfermedad psiquiátrica frecuente, se han realizados diversos estudios para determinar su causa y se han identificado factores ambientales y genéticos. Sin embargo, hasta el momento se desconocen cuántos y cuáles son los genes que lo originan. Comprender más acerca de sus posibles causas podrá ayudar en un futuro a mejorar su tratamiento.

¿De qué forma participaré?

Me realizarán una entrevista psiquiátrica en donde se me aplicará un cuestionario, que dura aproximadamente una hora. Proporcionaré una muestra de sangre de aproximadamente 5 ml por medio de un piquete en mi antebrazo, la cual contiene células de donde extraerán mi ADN para el análisis genético. Además, autorizo al investigador corroborar la información a través de mi expediente.

Si

No

¿Tiene algún riesgo el procedimiento?

El riesgo que tiene al ser tomadas las muestras de sangre, es el de un leve dolor agudo y pasajero por el piquete y algunas veces un moretón que sana en cuestión de días. Los utensilios con los que se toma la muestra de sangre son nuevos y estériles. Durante la entrevista se podrían tocar algunos temas delicados, si presentara una exacerbación de mi sintomatología se me proporcionará atención por parte del investigador principal.

¿Cuáles son sus derechos como participante?

La participación es voluntaria y en el caso de que no desee participar no afectará negativamente de ninguna manera la atención médica que recibo en esta institución. Mi participación no tiene ningún beneficio directo para mí, sin embargo, contribuirá en el estudio de los genes asociados al trastorno bipolar.

¿Su participación en el estudio implica algún gasto adicional?

El análisis genético, ni la entrevista tendrán algún costo.

CONFIDENCIALIDAD:

Mi identidad no será revelada en ninguna referencia del estudio o en sus resultados. Además, para salvaguardar mi anonimato a mis datos y muestra, se me asignará un código numérico, de tal manera que será imposible mi identificación, sólo el investigador principal tendrá acceso al identificador correspondiente. La información que brinde al Investigador en ningún momento será comunicada a otra persona ajena a este estudio.

Contacto:

Si tiene alguna pregunta, puede contactar a la investigadora: Dra. Seidy Alejandra Patrón Carrillo al tel. 4160 0000 extensión 5075 o 5073.

Consentimiento y firmas:

He hablado directamente con el investigador clínico responsable y este ha contestado todas mis preguntas en términos que he podido entender. Además, entiendo que en cualquier momento puedo consultarlo para aclarar dudas que me pudieran surgir.

Sé que es mi derecho el tomar la decisión de suspender en cualquier momento mi participación en el estudio, sin que esto tenga consecuencias en mi cuidado médico dentro de esta Institución. Soy libre de abandonar el estudio en cualquier momento que lo desee, sin que se vea afectada la atención médica que recibo en esta institución. La custodia de mi material genético estará a cargo de la Dra. Beatriz Camarena en el departamento de Genética de esta Institución.

Recibo una copia de este formato de consentimiento informado.

Nombre y firma del Paciente.

Fecha

Nombre y firma del investigador.

Fecha

Nombre y firma del Testigo 1

Fecha

Nombre y firma del Testigo 2.

Fecha