



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**ANÁLISIS DEL GEN 5-HTR2A EN LA ENFERMEDAD
DE PARKINSON CON DEPRESIÓN MAYOR EN
POBLACIÓN MEXICANA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGO

PRESENTA:
HAYDEE NOEMY LEÓN ECHEVERRÍA

DIRECTOR: Dra. PATRICIA ROJAS CASTAÑEDA
ASESOR: Dra. RAQUEL RETANA UGALDE



México, D.F. 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). Este proyecto de tesis se realizó bajo el financiamiento SALUD-2011-C01-162087, y a su vez, por la beca económica con registro SALUD-11-01-162087-01-091 otorgados por CONACyT.

Al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez” y a la Dra. Patricia Rojas Castañeda por la inclusión en el proyecto de investigación.

DEDICATORIAS

A Dios: Por darme tanto sin merecerlo. Me demostraste que contigo todo lo puedo. Gracias por guardarme, amarme y enseñarme.

A mis padres Noemy Echeverría y Salvador León: Sin ustedes no los hubiera podido lograr. Gracias por su apoyo incondicional en todos los aspectos de mi vida. Son mi orgullo y el motor para alcanzar el éxito en mi vida. No hay palabras que describan lo importante que son en mi vida. Los amo mucho.

A mis hermanos Josué y Arnold: Gracias por su apoyo en distintos momentos de mi vida, por ser mi inspiración, darme lecciones de vida y por consentirme sólo por ser la menor :D jijiji Los amo (aunque no lo demuestre) :P

A mis tíos Gloria Rodríguez y Arnoldo Padilla: Aunque los tengo lejos, el corazón no cambia, siguen siendo los mejores tíos del mundo, no tengo como regresar tanto amor que me han dado desde que nací. Gracias por apoyarme todo este tiempo. Son el ejemplo de vida más bonito que tengo. Los amo.

A la familia Martínez: Gracias por permitirme ser parte de su familia, por brindarme la comprensión, el apoyo y la compañía tan valiosa. Con ustedes tengo los recuerdos más lindos de mis últimos años. No tengo palabras para expresarles mi agradecimiento y amor.

A mi novio Alonso Ramos: Corazón sin ti no lo hubiera podido lograr, gracias por ser mi pilar y mi apoyo en todo. Luv U! :D

A mis familiares: por creer en mí y por todos los buenos momentos a lo largo de estos años.

A la Dra. Patricia Rojas: Le agradezco por aconsejarme, hacerme reflexionar y por todas las consideraciones que tuvo conmigo y con mi familia.

A M en C. Elizabeth Ruiz: Gracias por ser mi mentora, asesora, compañera de batalla y amiga. Inmensas gracias por tu paciencia y compromiso conmigo. Me llevo mucho aprendizaje tanto académico como personal.

A Perla González: Por ser mi compañera, amiga y hermana durante casi toda la carrera, gracias por ser mi cómplice, confidente y cuidadora en estos años. Te llevas un gran pedazo de mi corazón a donde vayas. ¡Te quiero amix!

A mis amigas de Celaya Fernanda, Elizabeth, Mariagna y Valeria: Aunque estuve lejos nunca me dejaron de procurar. Para la verdadera amistad no existen barreras de tiempo ni de distancia. Gracias por aguantarme todos estos años.

A mis amigos del D.F. Chucho, Nayeli, Diana, Ángela, Ale, Mónica, Rommel, entre muchos otros que compartieron momentos conmigo dentro y fuera de la facultad: Gracias por brindarme esa mano hermana cuando la necesite, por comprenderme y tenerme paciencia. Todos esos momentos memorables que forjan mi estancia en la universidad, me los llevo en el corazón. El cariño que recibí de cada uno de ustedes es irremplazable.

A mis amigos del laboratorio de Neurotoxicología Myr, Jesica, Diana, Miguel y Esau: Gracias por el compañerismo, complicidad, amistad, diversión y apoyo en este tiempo.

A mis sinodales QFB. Francisco Javier Parada García, Dra. Raquel Retana Ugalde, M. en C. Fernando F. Hernández Clemente y M. en C. Rodrigo Aníbal Mateos Nava: por el apoyo brindado, su tiempo y esfuerzo para concluir este trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza: por brindarme una licenciatura con formación integral, proveerme apoyo económico a lo largo de la carrera y concederme la oportunidad de realizar una movilidad estudiantil internacional a España.

**“ANÁLISIS DEL GEN *5HTR2A* EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON CON
DEPRESIÓN MAYOR EN POBLACIÓN MEXICANA”**

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIACIONES	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 Enfermedad de Parkinson.....	5
2.2 Tipos de depresión.....	8
2.3 Depresión en la Enfermedad de Parkinson.....	10
2.3.1 Factores biológicos	12
2.3.2 Factores psicosociales y terapéuticos	15
2.4 Serotonina.....	16
2.5 Receptores 5-HT _{2A}	22
2.6 Biomarcador.....	22
2.7 Generalidades del ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN)	24
2.7.1 Ácido desoxirribonucleico	24
2.7.2 Ácido ribonucleico	26
2.8 Polimorfismos genéticos	28
2.8.1 Clasificación de los SNP`s.....	30
2.9 Estudios de asociación genética	32
2.10 Gen <i>5HTR2A</i>	35
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	38
4. HIPÓTESIS DEL TRABAJO.....	39
5. OBJETIVOS	40
6. MATERIAL Y MÉTODO	41
6.1 Diseño experimental	41
6.2 Población de estudio.....	41
6.3 Criterios de inclusión.....	41
6.4 Criterios de exclusión.....	41

6.5 Criterios éticos	42
6.6 Variable dependiente	42
6.7 Variable independiente	42
6.8 Metodología	42
6.8.1 Sujetos de estudio	42
6.8.2 Genotipificación de los sujetos de estudio.	43
6.8.2.1 Secuenciación por método de Sanger.....	44
6.8.2.1.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	44
6.8.2.1.2 Reacción de secuenciación.....	45
6.8.2.1.3 Lectura de secuencias.	45
6.8.2.2 Curvas de disociación de alta resolución (HRM)	46
6.8.3 Análisis estadístico	47
7. RESULTADOS	50
7.1 Análisis del polimorfismo rs6313 del gen <i>5HTR2A</i> con la EP.	50
7.1.1 Características demográficas y clínicas.....	50
7.1.2 Relación del polimorfismo rs6313 del gen <i>5HTR2A</i> con la EP.	51
7.1.3 Relación de factores demográficos, clínicos y genéticos con la EP.....	55
7.2 Análisis del polimorfismo rs6313 del gen <i>5HTR2A</i> con depresión mayor en la EP.	57
7.2.1 Características demográficas y clínicas.....	57
7.2.2 Relación del polimorfismo rs6313 del gen <i>5HTR2A</i> con la depresión mayor en la EP.	58
7.2.3 Análisis por género.	61
7.2.3.1 Femenino.....	62
7.2.3.2 Masculino	64
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	68
8.1 Factores ambientales y genéticos.....	68
8.2 Relación de factores demográficos, clínicos y genéticos con la EP.....	71
8.2.1 Factores de riesgo: Polimorfismo rs6313 + Edad de inicio de la EP.....	73
8.3 Relación del polimorfismo rs6313 del gen <i>5HTR2A</i> con la depresión mayor en la EP	74
8.4 Análisis por género	78

8.4.1 Población femenina	78
8.4.2 Población masculina.....	79
9. CONCLUSIONES.....	81
10. PERSPECTIVAS.....	82
11. REFERENCIAS.....	83

LISTA DE ABREVIACIONES

5-HIAA: Ácido 5-hidroxiindolacético.

5-HT: serotonina.

5-HT_{2A}: receptor de serotonina 2A.

5HTR2A: Gen que codifica para la expresión de los receptores de serotonina 2A.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ARN: Ácido ribonucleico.

ARNm: ARN mensajero.

ARNr: ARN ribosomal.

ARNt: ARN de transferencia.

ARNtp: ARN transcrito primario.

ATC: Antidepresivos tricíclicos.

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool.

CpG's: Dinucleótidos de citosina-guanina. Enlace fosfodiéster de citosina con guanina.

cSNP: Polimorfismo de nucleótido simple localizado en regiones exónicas.

DAG: Diacilglicerol.

DSM-IV: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales.

EP: Enfermedad de Parkinson.

Gai: Receptor que inhibe la vía de la adenilato ciclasa.

Gaq: Receptor que activa la vía de la fosfolipasa C.

Gas: Receptor que activa la vía de la adenilato ciclasa.

GDS: Escala de depresión geriátrica de Yesavage

GPCRs: Receptores acoplados a proteínas G.

gSNP: Polimorfismo de nucleótido simple localizado en regiones intergenómicas.

HRM: Método de secuenciación por análisis de curvas de disociación de alta resolución.

IC del 95%: Intervalo de confianza del 95%.

IMAO: Inhibidores de la monoaminoxidasa.

INNN: Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez".

IP3: Inositol trifosfato.

IRSN: Inhibidor de la recaptación de serotonina y noradrenalina.

iSNP: Polimorfismo de nucleótido simple localizado en regiones intrónicas.

ISRS: inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina.

MAO: Enzima monoaminoxidasa.

NaSSA: Inhibidor no selectivo de la recaptación de serotonina y noradrenalina.

NCBI: National Center for Biotechnology Information.

nsSNP: Polimorfismo de nucleótido simple “no sinónimo” que alteran la conformación del gen.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

RM: Razón de momios u odds ratios

rSNP: Polimorfismo de nucleótido simple localizado en regiones reguladoras.

SERT: Transportador de serotonina.

SNC: Sistema nervioso central.

SNP: Polimorfismo de nucleótido simple.

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences aunque también se ha referido como Statistical Product and Service Solutions.

SRE: Secretaria de Relaciones Exteriores.

sSNP: Polimorfismo de nucleótido simple “sinónimos” que no alteran la conformación del gen.

T102C (rs6313): Polimorfismo de nucleótido simple donde se sustituye una citosina por una timina en el nucleótido 102.

VMAT: Transportador vesicular de monoaminas.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda patología neurodegenerativa progresiva y crónica más común relacionada con la edad avanzada después del Alzheimer. Los síntomas clínicos se dividen en motores y no motores. Se ha demostrado que los no motores, como la depresión, puede reducir la calidad de vida del paciente en un mayor grado que los motores.

La depresión es la comorbilidad neuropsiquiátrica más común asociada a esta patología. Las neuronas serotoninérgicas, dopaminérgicas y noradrenérgicas del cerebro desempeñan un papel importante en la depresión en la EP. Se ha sugerido que existe asociación entre el receptor de serotonina 2A (5-HT_{2A}) y esta comorbilidad. El gen *5HTR2A* codifica para la producción del receptor de serotonina 5-HT_{2A}.

En este trabajo se investigó la posible asociación del polimorfismo de nucleótido simple (SNP, del inglés single nucleotide polymorphism) rs6313 del gen *5HTR2A* con la depresión mayor en la población mexicana con EP. La evaluación se hizo por medio de un estudio de casos y controles utilizando diversas técnicas de biología molecular, como la secuenciación por método de Sanger y por análisis de curvas de disociación de alta resolución (HRM). Se genotipificaron individuos con EP e individuos sanos con el objeto de evaluar la asociación de este polimorfismo en la susceptibilidad del desarrollo de depresión mayor en pacientes con EP mexicanos.

Las frecuencias genotípicas y alélicas varían de un lugar a otro, por ejemplo las de la población asiática son distintas a las de la latina. Por este motivo no es

posible extrapolar los resultados de un grupo poblacional a otro, es importante que cada lugar determine sus propias frecuencias. Actualmente no existen estudios en la población mexicana del polimorfismo rs6313 en la enfermedad de Parkinson asociada a la depresión mayor.

La trascendencia de este estudio radica en que el polimorfismo rs6313, en conjunto con algunos otros polimorfismos relacionados, se puedan utilizar en un futuro como posible biomarcador genético para la asociación de depresión mayor en la EP en nuestra población. Este hecho nos permitirá apoyar a la realización de un diagnóstico temprano para ofrecer mejor calidad de vida al paciente y disminuir el gasto del sector salud.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda patología neurodegenerativa progresiva y crónica más común relacionada con la edad avanzada después del Alzheimer.¹ La EP afecta al 1% de la población mayor de 60 años y aproximadamente a 4% de la población mayor de 80 años.² Se espera que su prevalencia sea el doble en las próximas dos décadas paralelamente con el incremento del envejecimiento de la población.² Se hace referencia a EP precoz o de inicio temprano cuando los pacientes son diagnosticados con EP entre los 21 y 50 años de edad.³ Se le llama EP tardía o típica cuando la aparición de la enfermedad se presenta después de 50 años de edad.³

Los síntomas motores de la EP se caracterizan por rigidez muscular, bradicinesia[‡], temblor en reposo e inestabilidad postural.^{4,5} Los no motores como la depresión, el deterioro cognitivo, y la psicosis son altamente prevalentes e incapacitantes y se ha demostrado que puede reducir la calidad de vida en mayor grado que los motores.^{6,7}

Algunos otros síntomas no motores son: los sensitivos (anosmia[≈] y dolor), los autonómicos (disfunción urogenital, estreñimiento e hipotensión ortostática[∇]) y trastornos del sueño.^{6,7}

[‡] Bradicinesia: Escasez y lentitud en los movimientos voluntarios.

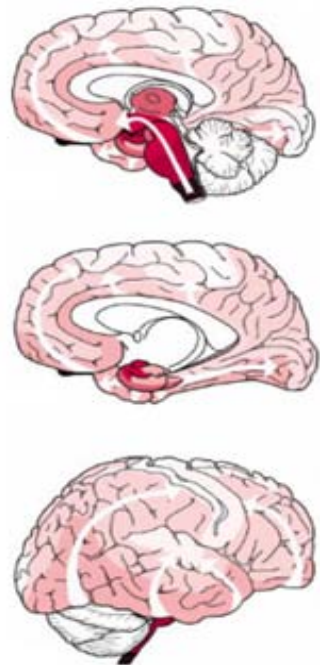
[≈] Anosmia: Pérdida del sentido del olfato.

[∇] Hipotensión ortostática: La presión arterial disminuye de forma abrupta cuando se pone de pie desde una posición en la que se encontraba acostado o sentado.

La patología en la EP implica algo más que el sistema de la dopamina: los estudios post-mortem muestran degeneración de grupos seleccionados de neuronas en varias regiones del cerebro, incluyendo las células dopaminérgicas de la sustancia negra pars compacta, las neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert, las neuronas serotoninérgicas del núcleo de rafe medio y las células noradrenérgicas del locus coeruleus, además de las neuronas en el sistema olfativo, corteza cerebral, la médula espinal, y sistema nervioso autónomo (SNA).^{8,9}

La causa de la muerte neuronal y la vulnerabilidad selectiva de ciertos grupos de células ha sido objeto de investigación durante las últimas décadas. Todavía no hay un acuerdo en cómo se inicia el proceso de la enfermedad y por qué sólo células seleccionadas se ven afectadas.^{6,10}

Existe una teoría que propone que el proceso neurodegenerativo comienza en el núcleo dorsal motor del glossofaríngeo, nervio vago y núcleo olfatorio anterior y, desde ahí, se extienden al resto de las zonas afectadas en la EP. Se proponen 6 estadios de evolución de las lesiones patológicas de la EP. En esta clasificación la afectación del sistema dopaminérgico no ocurre hasta el estadio 3 (*Figura 1*).⁶



ESTADIO	AFECTACIÓN	LESIONES PATOLÓGICAS
1	Bulbar	Lesión núcleo motor dorsal IX/X y/o zona reticular intermedia
2	Bulbar y pontina	Lesiones núcleo caudal del rafe, núcleo reticular giganteocelular y complejo coeruleus-subcoeruleus
3	Mesencéfalo	Sustancia nigra pars compacta
4	Prosencéfalo Basal	Lesiones prosencéfalo. Afectación cortical confinada al mesocórtex anteromedial temporal (región transentorrinal) y allocórtex (región CA2)
5	Neocórtex	Áreas de asociaciones sensoriales y región prefrontal
6	Neocórtex	Lesiones más extensas en las áreas de asociación y promotora y cambios en áreas sensoriales y motoras primarias.

Figura 1. Estadios anatomopatológicos en la Enfermedad de Parkinson (Modificado de Weintraub, 2004).

La hipótesis etiológica más aceptada es la que defiende que la EP puede obedecer a una interacción compleja entre daños producidos por reacciones químicas en el cuerpo (como la oxidación), los factores tóxicos ambientales (como herbicidas y pesticidas), los rasgos de predisposición genética y el envejecimiento prematuro. Esta hipótesis plantea que la conjunción del plegamiento erróneo de proteínas y su agregación, unida a la disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo por inclusión de las especies tóxicas generadas del metabolismo intracelular de la dopamina, parece ser la clave del proceso que lleva a la muerte celular prematura en la EP.^{5,7}

Una línea de investigación de la causa de la enfermedad de Parkinson ha sido la evaluación de las alteraciones genéticas, incluyendo mutaciones de genes y polimorfismos de nucleótido simple (SNP's, del inglés single nucleotide polymorphism). Se ha establecido que el 80% de los casos con EP son esporádicos y sin causa evidente, sólo del 10-15% de casos con EP son hereditarios.^{7,10}

Edwards y cols. plantean que las enfermedades complejas, como la EP, pueden implicar anomalías en múltiples genes que contribuyen a la funcionalidad celular, lo que podría llevar a alteraciones estructurales en las neuronas causando la neurodegeneración.^{8,10}

2.2 Tipos de depresión

La depresión es una alteración patológica del estado de ánimo caracterizada por anhedonia[≠], minusvalía (baja autoestima, desaliento, tristeza, desdicha), dificultades con la memoria y/o atención, pérdida o aumento de peso, pérdida o ausencia de apetito, insomnio, hipersomnia[∇], fatiga, retardo psicomotriz, sentimientos de culpa, llanto fácil, cefalea, dificultades para tomar decisiones, pérdida del impulso vital, ideación suicida.^{11,12}

La depresión es la co-morbilidad neuropsiquiátrica más común en la EP, afecta aproximadamente al 35-40% de los pacientes.¹³

[≠] Anhedonia: Incapacidad para disfrutar de actividades que antes del padecimiento producían placer.

[∇] Hipersomnia: Somnolencia diurna excesiva.

El manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM-IV) clasifican la depresión en tres categorías: depresión mayor, distimia y depresión no especificada.¹⁴

La depresión mayor es un período de al menos 2 semanas en el que hay estado de ánimo deprimido o pérdida de interés en casi todas las actividades. Además de anhedonia y minusvalía, se debe mantener al menos otros cuatro síntomas: a) cambios de apetito o peso, del sueño y de la actividad psicomotora; b) falta de energía; c) sentimientos de infravaloración o culpa; d) dificultad para pensar, concentrarse o tomar decisiones; y e) pensamientos recurrentes de muerte o ideación, planes o intentos suicidas. Se caracteriza por un malestar clínico significativo o de deterioro social, laboral o de otras áreas importantes de la actividad del individuo.^{12,14}

La distimia es un estado de ánimo crónicamente depresivo que está presente la mayor parte del día de la mayoría de los días durante al menos 2 años. Además de anhedonia y minusvalía, debe haber al menos otros dos síntomas de entre los siguientes: pérdida o aumento de apetito, insomnio o hipersomnia, falta de energía o fatiga, baja autoestima, dificultades para concentrarse o para tomar decisiones y sentimientos de desesperanza. Los intervalos libres de síntomas no son superiores a 2 meses.^{12,14}

La depresión mayor y la distimia se distinguen con base en la gravedad, cronicidad y persistencia.¹⁴ En la depresión mayor el estado de ánimo depresivo debe estar presente la mayor parte del día, casi cada día, durante un período de al menos 2 semanas, mientras que la distimia debe estar presente la mayoría de los días a lo largo de un período de al menos 2 años. La depresión mayor se puede

distinguir de la actividad normal de la persona, mientras que la distimia se caracteriza por síntomas depresivos menos graves y crónicos, que se han mantenido durante muchos años.¹⁴

La categoría de depresión no especificada incluye los desórdenes con síntomas depresivos que no cumplen los criterios para la depresión mayor o distimia. Entre ellos se incluyen los siguientes trastornos: disfórico premenstrual, depresión menor, depresión breve recidivante, depresión postpsicótica en la esquizofrenia, entre otros.¹⁴

2.3 Depresión en la Enfermedad de Parkinson

Se ha demostrado que los síntomas depresivos en la EP a menudo son evidentes antes de la aparición de los síntomas motores típicos y un diagnóstico previo de depresión mayor se asocia con mayor susceptibilidad de desarrollar posteriormente la EP, también se ha observado que la incidencia de los síntomas depresivos aumenta con la progresión de la enfermedad.^{13,15}

El diagnóstico de la depresión en la EP es complicado debido a que se comparten varios síntomas en ambas enfermedades como: astenia[∇] y falta de energía, enlentecimiento psicomotor, disminución de la expresión emocional (por ejemplo, anhedonia* [la hipomimia[†] y la bradicinesia[‡] pueden simularla]), enlentecimiento (bloqueo) cognitivo, dificultades de concentración, disminución del

[∇] Astenia: Es una sensación de debilidad muscular y falta de vitalidad generalizada, tanto física como intelectual.

* Anhedonia: Falta de reactividad a los estímulos habitualmente placenteros.

[†] Hipomimia: Disminución de la gesticulación facial.

[‡] Bradicinesia: Escasez y lentitud en los movimientos voluntarios.

apetito, pérdida de peso, alteración del sueño (insomnio o hipersomnia[□]) y disfunciones sexuales.⁷

En virtud de estas dificultades, el diagnóstico de depresión en la EP es auxiliado a menudo por escalas y pruebas neuropsicológicas. Entre estas, las más utilizadas son el Inventario de Depresión de Beck, las escalas de Depresión de Montgomery-Åsberg, y la de Hamilton.⁵

La escala de depresión de Beck fue concebida para el seguimiento de la terapia en pacientes con depresión. Con el tiempo, su uso se incorporó al diagnóstico del trastorno depresivo. Esta escala mide 21 aspectos somáticos y psicológicos, con puntaje de 0 a 3. Un puntaje de 15 define depresión en estudios clínicos. Las otras dos escalas (Hamilton y Montgomery-Åsberg) se pueden emplear como auxiliares en el diagnóstico de depresión. Con un puntaje de 16/17 es posible la diferenciación entre individuos deprimidos y no deprimidos.^{5,16}

Desde el punto de vista práctico, la escala de depresión de Beck tiene la ventaja de que el paciente lo responde directamente, en tanto que las otras dos escalas requiere una entrevista entre examinador y paciente. Aunque la escala de depresión de Beck se haya creado para seguimiento y la escala de depresión de Hamilton y de Montgomery-Åsberg para diagnóstico, estas escalas se pueden utilizar longitudinalmente para verificar la respuesta al tratamiento de antidepresivos.^{5,16}

Debido a que los síntomas depresivos aumentan con la progresión de la enfermedad, en este estudio también se incorporó la escala de depresión geriátrica abreviada de Yesavage (GDS)¹⁶, debido a que muestra buena fiabilidad para diagnosticar el estado depresivo en población longeva y son fácilmente aplicables

[□] Hipersomnia: Somnolencia diurna excesiva.

por personal médico no especializado en geriatría. Esta escala consta de 15 preguntas que el paciente debe responder afirmativa o negativamente. Se utiliza un punto de corte de 5 para discriminar trastornos depresivos.¹⁶

No se conoce a detalle la etiología de la depresión en la EP. El mecanismo subyacente es complejo y probablemente implica factores biológicos (comorbilidad de la EP y otras enfermedades crónicas), psicosociales (falta de apoyo social, historia psiquiátrica, eventos estresantes de la vida, tipos de personalidad, etc.) y terapéuticos.^{12,13,17}

2.3.1 Factores biológicos

Existen varias teorías que se complementan para explicar los factores biológicos que causan la depresión, entre las cuales se encuentran las siguientes:

1) La teoría del déficit de la transmisión monoaminérgica. De acuerdo a esta teoría, la disminución de la concentración de monoaminas cerebrales (noradrenalina, adrenalina, dopamina y serotonina) es responsable de la disminución del estado de ánimo.¹²

2) Existe una hipótesis que sugiere que la depresión en la EP se relaciona con un problema orgánico cerebral secundario a la degeneración de las vías dopaminérgicas de los circuitos mesolímbicos y mesocorticales que regulan el afecto, la conducta y las cogniciones.⁷ Hay 4 vías dopaminérgicas en el cerebro: a) Vía mesocortical, desde el área tegmental ventral hasta la corteza cerebral, relacionada con función cognitiva (atención, concentración, memoria, etc.); b) Vía mesolímbica, desde el área tegmental ventral hasta el núcleo accumbens, relacionada con el

sistema de búsqueda, recompensa y motivación; c) Vía nigro-estriatal, desde la sustancia negra pars compacta a los ganglios basales, relacionada con el control del movimiento; d) Vía tuberoinfundibular, desde el hipotálamo hasta la pituitaria, relacionada con la secreción de prolactina (Figura 2, A).^{18,19}

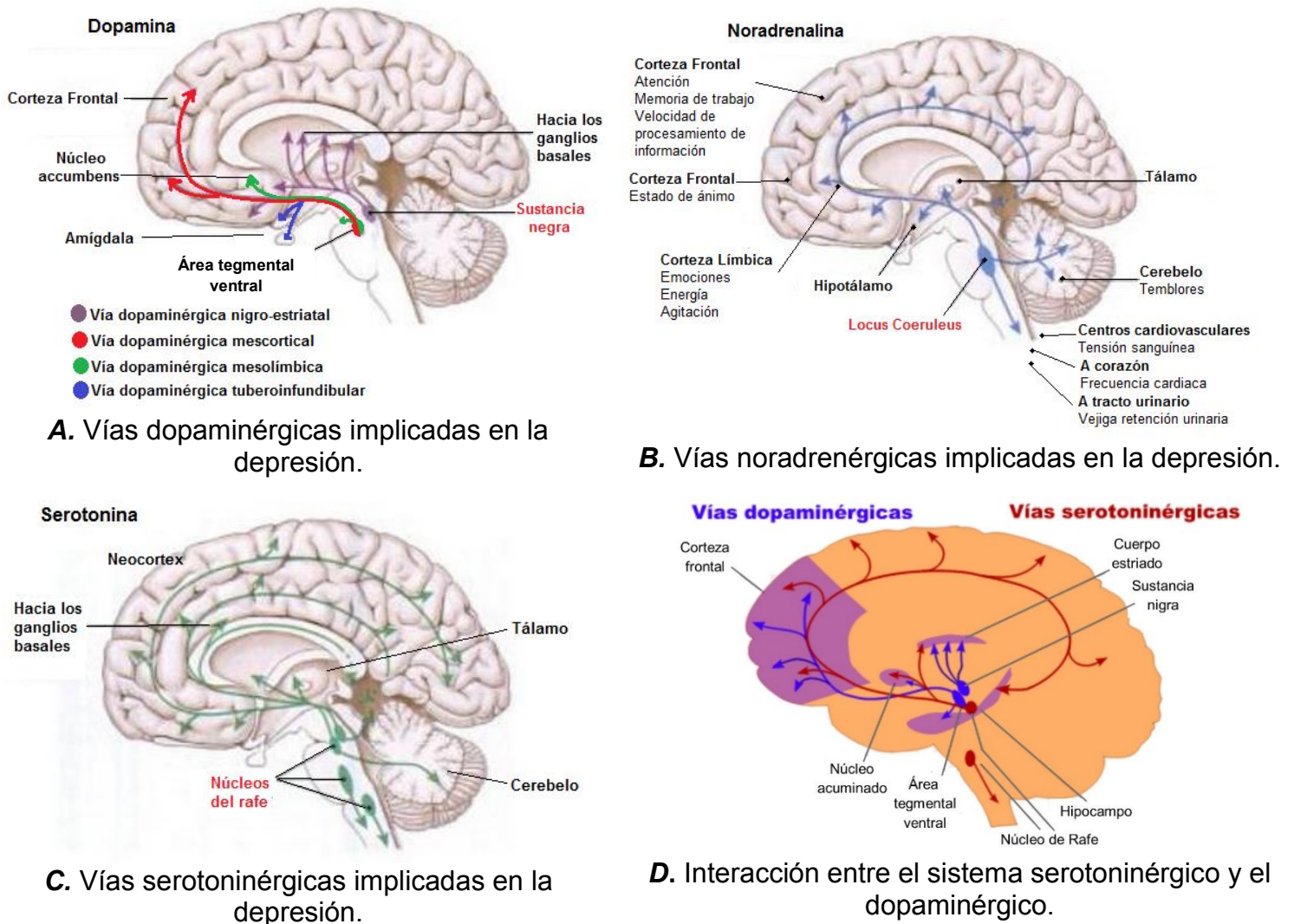


Figura 2. Estructuras anatómicas de los sistemas neuronales y su relación en la depresión en EP. **A.** La degeneración de la vía mesolímbica y mesocortical están relacionadas con la depresión. **B.** Existen 2 vías noradrenérgicas: 1) Vía ventral: Nace en el locus coeruleus con una porción descendiente a espina dorsal y otra porción ascendente que se dirige a hipotálamo, cuerpos mamilares, sistema límbico y cerebelo. 2) Vía dorsal: Nace en el locus coeruleus con porción ascendente que va a corteza y otra porción descendiente que va a ganglios basales y cerebelo. La denervación corticolímbica (desde el locus coeruleus) está implicada en la depresión. **C.** Vías serotoninérgicas: Nacen en los núcleos del rafe y se proyectan a la corteza prefrontal, los ganglios basales, sistema límbico, hipotálamo, centros del sueño y zona quimiorreceptora del tallo cerebral y medula espinal. La denervación corticolímbica (desde los núcleos de rafe) se vincula con la depresión. **D.** Interacción entre el sistema serotoninérgico y dopaminérgico: La denervación serotoninérgica de los ganglios basales y del cuerpo estriado dificulta la liberación de dopamina, provocando síntomas de depresión (Modificado de Silverthorn 2009 y Escalante 2015).

3) Otra teoría explica que la depresión se relaciona con los circuitos fronto-subcorticales de las vías dopaminérgicas, serotoninérgicas y noradrenérgicas. Es probable que la depresión en la EP sea consecuencia de la denervación corticolímbica serotoninérgica y noradrenérgica por pérdida celular del núcleo del rafe y locus coeruleus respectivamente (*Figura 2, B y C*).⁷

4) Datos post-mortem indican que los daños en las neuronas serotoninérgicas del cerebro podría desempeñar un papel importante en la depresión de la EP.² Todos los componentes de los ganglios basales están inervados por las neuronas serotoninérgicas (*Figura 2, D*). Estos participan en la regulación motora y en las funciones asociativas y límbicas; este hecho hace que la transmisión serotoninérgica tenga gran importancia en el contexto de los síntomas motores de la EP y la depresión.²⁰

En el cuerpo estriado existen densas terminaciones de las neuronas serotoninérgicas (*Figura 2, D*), se sabe que el aumento de serotonina (5-HT) en este sitio facilita la liberación de dopamina de las terminales de las neuronas dopaminérgicas.^{20,21} En la depresión, la neurotransmisión serotoninérgica disfuncional provoca un estado hipodopaminérgico sobre todo de las áreas del cuerpo estriado* y en consecuencia produce una disminución de la estimulación de áreas corticales implicadas en la motivación y la recompensa.^{12,14}

5) Para algunos pacientes con EP (10-15%) la causa de la depresión puede ser genética. Estos casos de EP familiar hereditaria son asociados con diversas mutaciones autosómicas dominantes y recesivas. Por otra parte, la presentación clínica en este porcentaje de la población con EP, se caracteriza a menudo por la

* Este estado hipodopaminérgico es característico en la EP.

aparición temprana de los síntomas motores (menos de 50 años) y problemas de comportamiento. En la actualidad, se sabe poco acerca de la EP hereditaria o familiar.^{7,13}

2.3.2 Factores psicosociales y terapéuticos

Los factores de estrés psicológicos y físicos relacionados con la EP contribuyen, al menos parcialmente, a la depresión en la EP pues se asocia con discapacidad, progresión de la enfermedad, disminución de las actividades de la vida diaria y desempeño cognitivo reducido.⁵

Algunos factores terapéuticos hacen referencia a que existen ciertos fármacos anti-parkinsonianos que pueden inducir trastornos depresivos, como amantadina o L-dopa. Asimismo, existen antidepresivos que inducen parkinsonismo como amoxapina, lorazepam, pirlindona, buspirona e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS).²²

Los pacientes que desarrollan síntomas incapacitantes a pesar del tratamiento médico óptimo, son candidatos para una intervención quirúrgica denominada “estimulación cerebral profunda”, que se dirige ya sea al núcleo subtalámico o al globo pálido interno. La estimulación eléctrica de alta frecuencia de los electrodos implantados bilateralmente restaura los déficits motores en EP avanzada. Sin embargo, los efectos adversos más frecuentes son: infección del sitio quirúrgico, caídas y depresión. De esta manera, la depresión puede ser consecuencia de algún tratamiento farmacológico o quirúrgico para controlar la EP inicial.^{2,13,23}

2.4 Serotonina

La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) es una indolamina simple (Figura 3).

Se ha demostrado que funciona como un neurotransmisor en el sistema nervioso

central y también como hormona circulante en todo el cuerpo. Se localiza fundamentalmente en el Sistema Nervioso Central (SNC), en el tracto gastrointestinal y en las plaquetas. Esta amina se sintetiza a partir del triptófano de la dieta gracias a la enzima triptófano hidroxilasa y la aminoácido aromático descarboxilasa (Figura 4).^{7,24,25}

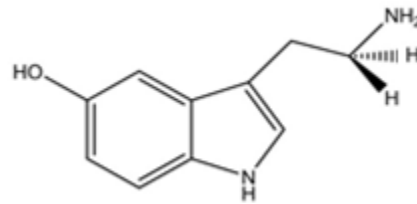


Figura 3. Estructura química de la serotonina (Tomado de Gresch, 2004).

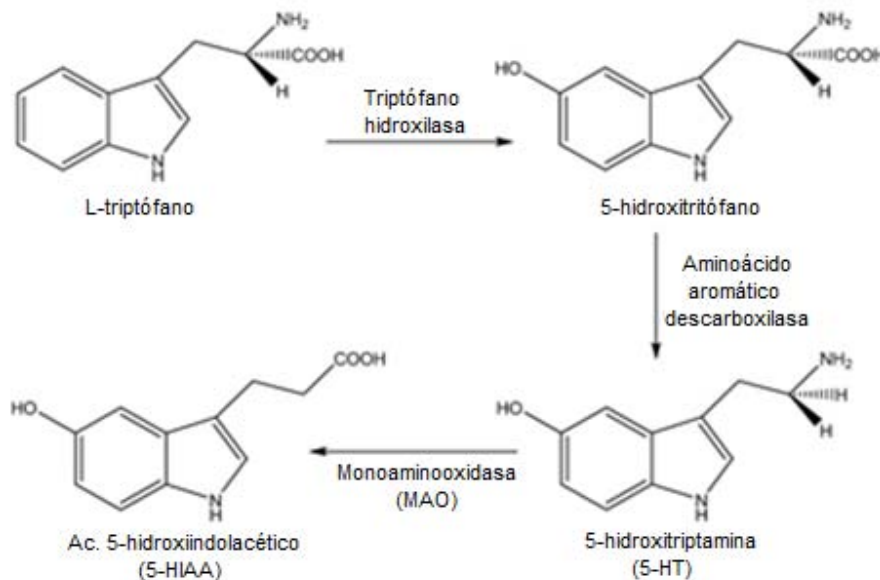


Figura 4. Síntesis y metabolismo de la serotonina (Tomado de Gresch, 2004).

La principal fuente de esta hormona en la circulación son las células enterocromáfines del intestino, donde se sintetiza, almacena y se libera al torrente

sanguíneo y aquí se concentra en las plaquetas por un mecanismo de transporte activo.²⁴

La síntesis del neurotransmisor 5-HT en el SNC se lleva a cabo principalmente en el núcleo de rafe en las terminales axónicas de las neuronas presinápticas donde se almacena en vesículas gracias al transportador vesicular de monoaminas (VMAT), el cual regula la entrada de la 5-HT a las vesículas para protegerla de la acción de la enzima monoaminoxidasa (MAO) quien se encarga de metabolizar la 5-HT a ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), su metabolito inactivo (*Figura 4*).^{24,25}

Cuando es requerida la 5-HT, ésta se libera de las vesículas de las neuronas presinápticas a la hendidura sináptica por una compleja serie de interacciones bioquímicas iniciadas por la entrada de calcio (*Figura 5*).²⁵

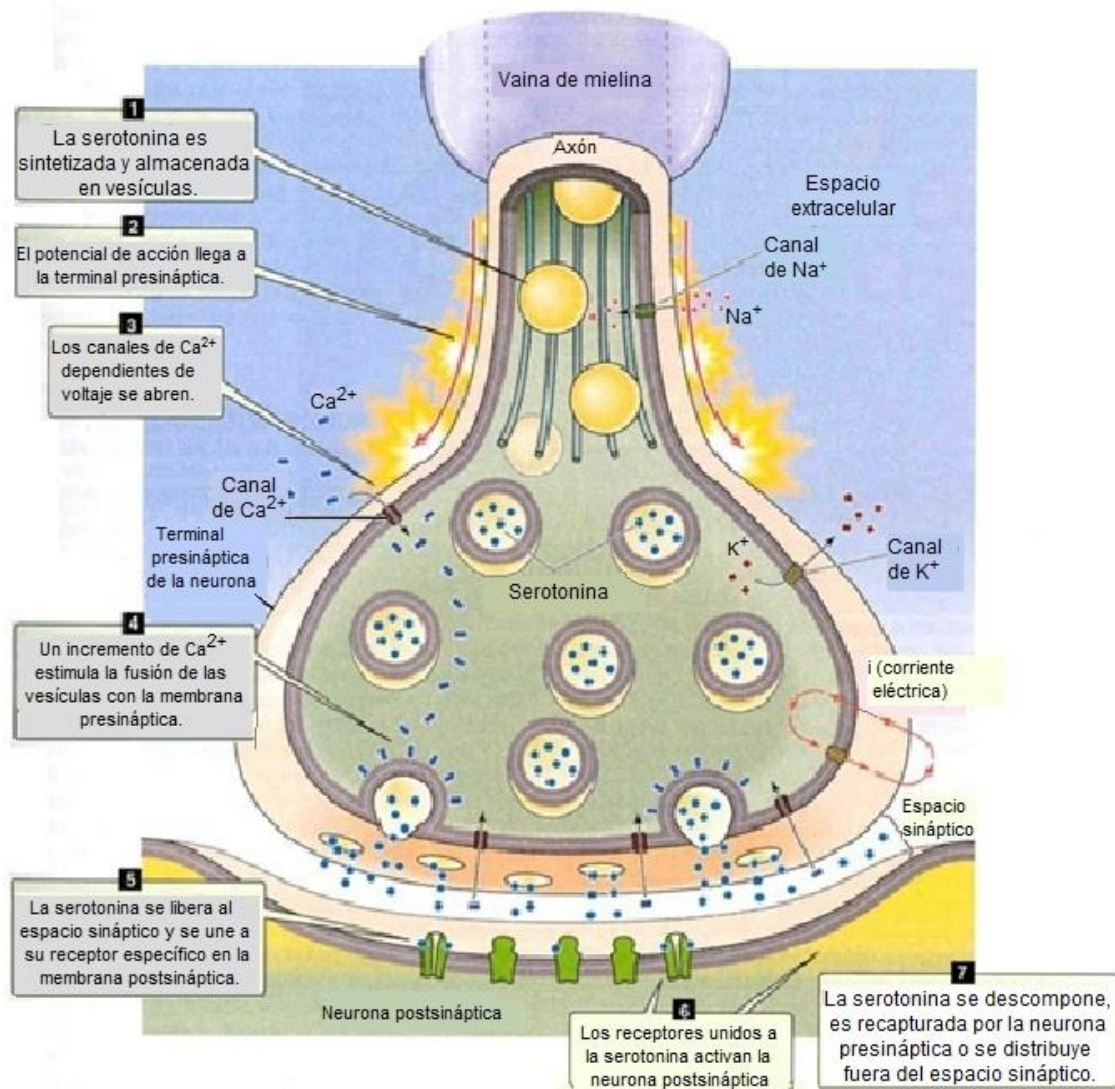


Figura 5. Neurotransmisión de la serotonina. Cuando un potencial de acción llega a la neurona presináptica, los canales de calcio-dependientes de voltaje se abren y permiten la entrada de calcio. El aumento de la concentración de calcio intracelular estimula la fusión de las vesículas con la membrana presináptica. La serotonina se libera al espacio sináptico y esta puede tener 4 destinos: 1) unirse a sus receptores específicos en la membrana postsináptica, 2) distribuirse fuera del espacio sináptico, 3) ser recapturada por la neurona presináptica o 4) ser degradada por la enzima monoaminoxidasa, MAO (Modificado de Gresch, 2004).

En la hendidura sináptica, la 5-HT interactúa con sus receptores específicos en la neurona postsináptica. Existen 12 receptores de serotonina segregados en 7 familias. Todos estos, excepto el 5-HT₃, son miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) (*Cuadro 1*).^{24,25}

Cuadro 1. Tipos y subtipos de los receptores de serotonina y sus características.

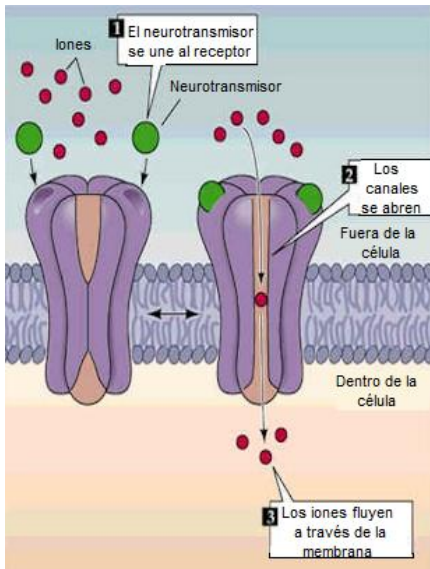
Familia de receptores	Subtipo	Distribución	Vía de transducción primaria
5-HT ₁	5-HT _{1A}	Cerebro (Núcleos de rafe, hipocampo)	Inhibición de la adenilato ciclasa (Gai)
	5-HT _{1B}	Cerebro (Sustancia negra, globo pálido, ganglios basales)	
	5-HT _{1D}	Cerebro (Corteza cerebral)	
	5-HT _{1E}	Cerebro (Corteza cerebral, putamen)	
	5-HT _{1F}	Cerebro (Corteza cerebral, hipocampo)	
5-HT ₂	5-HT _{2A}	Plaquetas, musculo liso, corteza cerebral.	Activación de la fosfolipasa C (Gaq)
	5-HT _{2B}	Fondo del estómago	
	5-HT _{2C}	Cerebro (Plexos coroideos, hipocampo, sustancia negra)	
5-HT ₃		Área postrema, nervios sensitivos (óptico, vestibulococlear y olfatorio), nervios entéricos	Cierra canales iónicos activados por ligando
5-HT ₄		Neuronas del SNC y mientéricas, musculo liso	Activación de la adenilato ciclasa (Gas)
5-HT ₅	5-HT _{5A} 5-HT _{5B}	SNC y cuerpo carotídeo	Inhibición de la adenilato ciclasa (Gai)
5-HT ₆		Cerebro (Bulbo olfatorio, corteza cerebral, núcleo accumbens, núcleo caudado, hipocampo)	Activación de la adenilato ciclasa (Gas)
5-HT ₇		Cerebro, tracto gastrointestinal	Activación de la adenilato ciclasa (Gas)

Los GPCRs generan segundos mensajeros intracelulares tales como AMP cíclico y calcio, que estimulan o inhiben diversas enzimas cinasas y fosfatasas. Al término, estos receptores GPCRs modifican indirectamente el potencial de membrana mediante la regulación de voltaje con canales iónicos (receptores

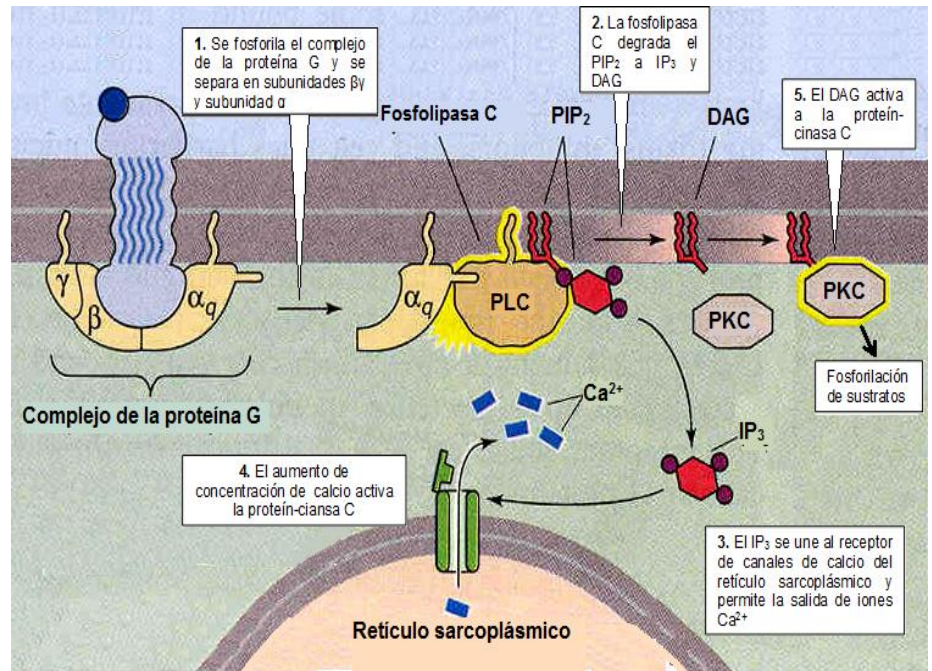
ionotrópicos) o canales iónicos activados por ligando (receptores metabotrópicos) actuando como neuromoduladores en la neurotransmisión rápida (*Figura 6*).^{24,25}

Si la 5-HT liberada no se une a receptores específicos en la hendidura sináptica, su acción se termina por la recaptura en la terminal presináptica por el transportador de 5-HT (SERT), es inactivada por la MAO o se distribuye fuera del espacio sináptico (*Figura 5*).²⁵

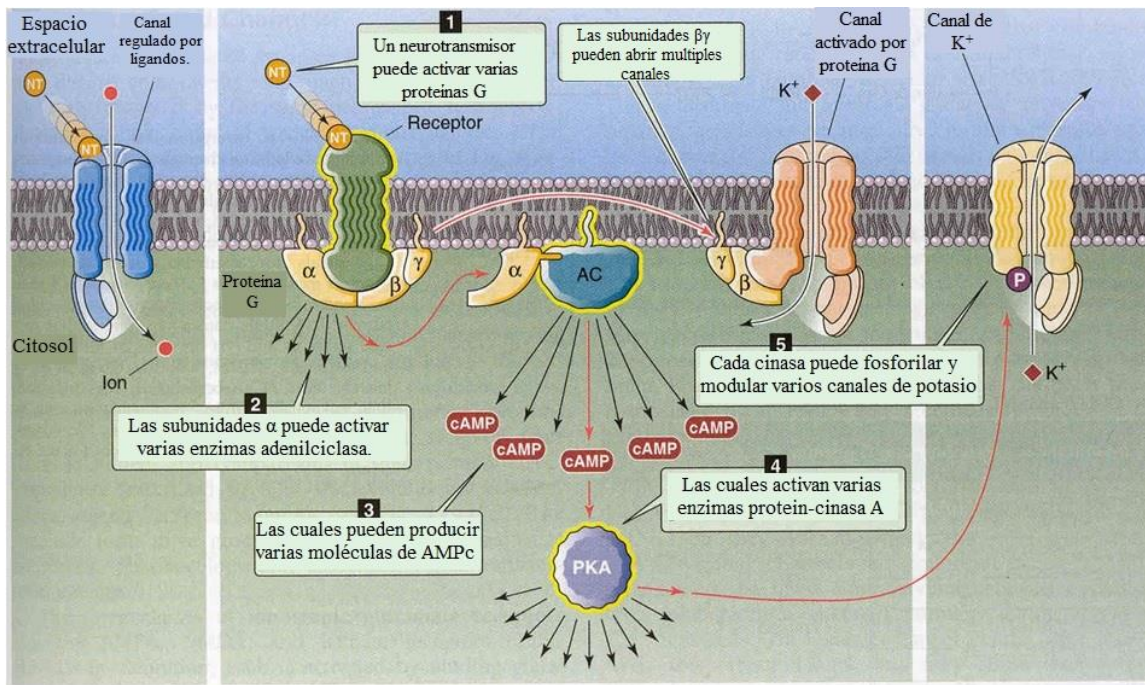
La mayoría de los subtipos de receptores se distribuyen en gran medida en todo el SNC. Sin embargo, 95 % de la 5-HT sintetizada se encuentra periféricamente, especialmente en el intestino. Por lo tanto, el mayor número de receptores de 5-HT están presentes periféricamente.²⁵



A. Receptor ionotrópico.



B. Receptor metabotrópico por vía de la fosfolipasa C.



C. Receptor metabotrópico por vía de la adenilato ciclasa

Figura 6. Tipo de receptores de serotonina. **A.** Receptor Ionotrópico: El neurotransmisor se une al receptor y este se abre para permitir la entrada de iones a la neurona; **B.** Receptor metabotrópico por vía de la fosfolipasa C: La proteína G se fosforila y activa la fosfolipasa C (PKC) para la producción de diacilglicerol (DAG) y de inositol trifosfato (IP_3) a partir de fosfatidilinositol (PIP_2). El DAG y el IP_3 son los encargados de dar la respuesta fisiológica. **C.** Receptor metabotrópico por vía de la adenilato ciclasa. La proteína G se fosforila y activa la adenilato ciclasa (AC) para la activación del segundo mensajero AMP cíclico (cAMP). El cAMP activa la protein-cinasa A (PKA) para dar respuesta fisiológica^{26,27} (Modificado de Tovar 2015 y Boron 2012).

2.5 Receptores 5-HT_{2A}

El receptor de serotonina 2A (5-HT_{2A}) ha sido implicado en los trastornos mentales con etiologías complejas que todavía no se entienden claramente.²⁸

Se han identificado variaciones genéticas en casi todos los receptores de serotonina, principalmente del tipo SNP. Los polimorfismos en genes encargados de la producción de receptores de serotonina, tienen el potencial de: 1) alterar la capacidad del receptor para unirse al ligando, 2) activar las vías de traducción de señales, o 3) adaptarse a las influencias del ambiente.²⁹ Esto sugiere la relación de estos polimorfismos con la afectividad, la regulación de la neurotransmisión y los efectos farmacológicos de medicamentos antidepresivos, ansiolíticos y antipsicóticos.³⁰

Los receptores 5-HT_{2A} se distribuyen ampliamente en los tejidos periféricos pues intervienen en la contracción del músculo liso (vascular, bronquial, uterino, etc.) en la agregación plaquetaria y en el aumento de la permeabilidad capilar. También están representados en el SNC: 5-HT_{2A} está presente en el núcleo de rafe, áreas corticales, caudado, núcleo accumbens, tubérculo olfativo, hipocampo y ganglios basales. Todos los miembros de la subfamilia de receptores 5-HT₂ actúan mediante la activación de fosfolipasa C (*Figura 6, B*).^{24,25}

2.6 Biomarcador

Un biomarcador es una característica que funge como indicador de un proceso biológico normal, un proceso patogénico, o una respuesta farmacológica de alguna

intervención terapéutica. Debe poder medirse objetivamente y evaluarse como indicador del proceso a tratar.²

Los biomarcadores se pueden clasificar principalmente en moleculares y de imagen, entre otros. Los moleculares incluyen los basados en ácidos nucleicos, tales como mutaciones genéticas o polimorfismos, y en análisis de la expresión de genes, péptidos, proteínas, metabolitos de los lípidos, y otras moléculas pequeñas.²

Estos pueden servir para varios fines incluyendo.^{2,31}

- ❖ La predicción y/o confirmación del diagnóstico de alguna enfermedad.
- ❖ La detección epidemiológica.
- ❖ La vigilancia de la progresión de la enfermedad tras el diagnóstico.
- ❖ El desarrollo de fármacos.
- ❖ La respuesta al tratamiento de la enfermedad.

Actualmente el tratamiento de la EP es sintomático pero los síntomas clínicos aparecen después de la degeneración de un número significativo de neuronas dopaminérgicas (~75%). Resulta necesario la identificación de nuevos biomarcadores sensibles y específicos para la EP que faciliten el diagnóstico en etapas tempranas, identifiquen la progresión de la enfermedad y evalúen la respuesta a los tratamientos actuales y futuros.^{2,31}

Los polimorfismos pueden ser ocupados como biomarcadores genéticos utilizándolos como factores de susceptibilidad para el desarrollo o progresión de cierta enfermedad.³¹

La expresión de la enfermedad ocurre como resultado de la alteración de varios genes (diferentes genes de susceptibilidad). El número y las combinaciones

de genes de susceptibilidad pueden ser distintos entre individuos y también varían de una población a otra.³²

El efecto en la variación de un gen de susceptibilidad no es suficiente para causar la expresión de la enfermedad, solo el efecto aditivo de estas variaciones genéticas en ciertas combinaciones confiere susceptibilidad genética. La enfermedad sólo se desarrollará cuando ciertos factores de riesgo favorezcan la expresión, tales como: el estilo de vida, los hábitos alimenticios, los antecedentes familiares, los factores ambientales, entre otros.³²

Para poder medir esta susceptibilidad se utiliza una herramienta estadística llamada razón de momios (odds ratio en inglés) que compara el riesgo de enfermarse (en nuestro estudio: desarrollar depresión mayor en la EP) entre el grupo que presenta la característica de estudio (el polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A*), contra el riesgo de enfermarse del grupo que no la presenta. Esta medida es la que mejor refleja la asociación si lo que se desea es conocer la probabilidad de padecer la enfermedad en función de la exposición.³³

2.7 Generalidades del ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN)

2.7.1 Ácido desoxirribonucleico

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es una macromolécula de aspecto filamentoso, donde reside la información genética, a partir de la cual la célula sintetiza todos sus elementos necesarios para la vida.³⁴

La molécula de ADN está formada por unidades químicas o monómeros denominados desoxirribonucleótidos, los cuales están compuestos de una base nitrogenada (purina o pirimidina), un azúcar (desoxirribosa) y un grupo fosfato. La base nitrogenada es la portadora de la información genética, y en conjunto con el azúcar y el fosfato constituyen la estructura de doble hélice del ADN. La estructura de doble hélice descrita por Watson y Crick es el resultado de la complementariedad entre las dos cadenas de ADN que se produce por la relación única que existe entre las bases nitrogenadas: Adenina:Timina (Uracilo en el caso de ARN) y Guanina:Citosina (*Figura 7*).^{34,35}

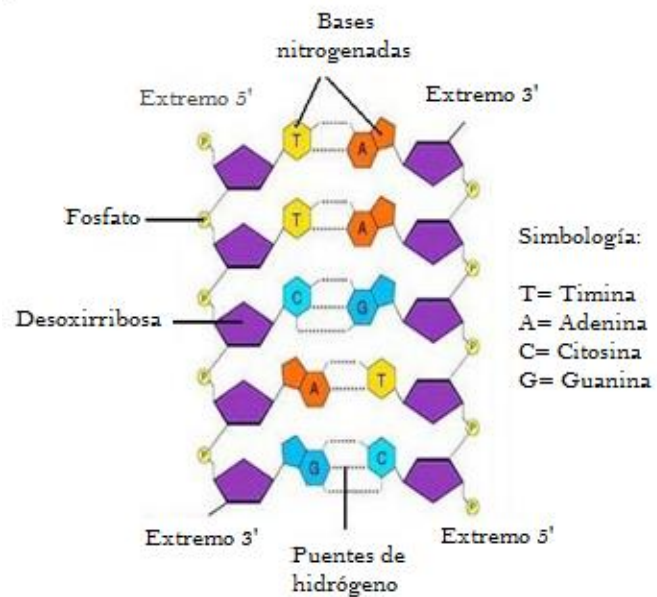


Figura 7. Interacción de las bases nitrogenadas del ADN (Tomado de Watson, 2008).

Gracias al ordenamiento complementario de los pares de bases, cada cadena puede servir como molde para generar una nueva cadena. Al abrirse la doble hélice se pueden generar dos cadenas nuevas idénticas (replicación del ADN). A pesar de que cada uno de los puentes de hidrógeno entre las bases nitrogenadas es débil, el ADN es estable a temperaturas fisiológicas debido a que las dos cadenas se mantienen unidas por muchos puentes de hidrógeno a lo largo de más de cien millones de nucleótidos. Las dos cadenas se pueden separar al ser expuestas a una solución de temperaturas crecientes o por acción de reactivos

suaves (por ejemplo álcalis, formamida o urea). A este proceso se le conoce como desnaturalización.³⁵

Cuando se les aumenta la concentración iónica, enfría o neutraliza el pH, las cadenas se reasocian para formar una doble hélice (únicamente si son complementarias), a este proceso se le llama renaturalización.³⁵

Estos dos procesos son la base de distintas técnicas de biología molecular, como son la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la comparación de curvas de disociación de alta resolución del ADN (HRM, por sus siglas en inglés: High Resolution Melting).^{36,37}

La PCR es una técnica *in vitro* utilizada para amplificar enzimáticamente una región determinada del ADN cuya secuencia se conoce. La HRM es una técnica de biología molecular post-PCR que se basa en el análisis y comparación de curvas de desnaturalización del ADN.³⁷

2.7.2 Ácido ribonucleico

El ácido ribonucleico (ARN) es la molécula resultante del proceso de transcripción del ADN (*Figura 8*). Esta molécula es el punto intermedio entre el ADN y la síntesis de proteína.³⁸

Existen tres tipos principales de ARN: EL ARN mensajero (ARNm) que se encarga de llevar el mensaje (en forma de secuencia de nucleótidos) al

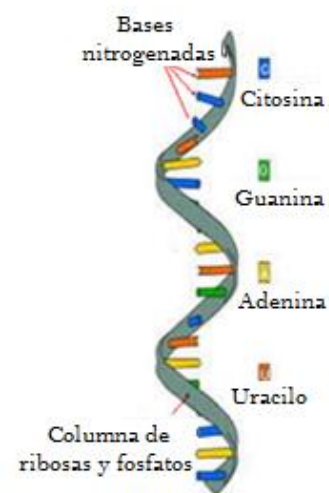


Figura 8. Estructura del ARN (Tomado de Zavala, 2005).

lugar de la síntesis (los ribosomas). El ARN de transferencia (ARNt) que es el encargado de transportar los aminoácidos al lugar de “reconocimiento” y de síntesis en el ribosoma. El ARN ribosomal (ARNr) que se encuentra en el ribosoma y es la “fabrica” donde se lleva a cabo la síntesis de proteínas. Para que se dé la síntesis de proteínas, se requiere una interacción compleja y ordenada de los tres tipos de ARN.³⁴

La síntesis de una proteína a partir de la información del ADN se realiza mediante dos mecanismos: la transcripción, que es la síntesis de una molécula de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) usando al ADN como molde, y la traducción, que es la síntesis de una proteína por la lectura del ARNm en los ribosomas.^{34,38}

La transcripción se hace por ternas o tripletes, cada terna representa una unidad del mensaje que determina un aminoácido. Esta información que pasa del ADN al ARNm es necesaria para la construcción de una proteína.³⁹

El ARNm se sintetiza en el núcleo de la célula, sin embargo, la traducción se produce en el citosol. Por lo tanto, este tipo de ARNm debe tener cambios estructurales para poder salir del núcleo, ser estable y poder ser reconocido por los demás tipos de ARN para realizar la traducción. Estos pasos constan en: adición del casquete (CAP), adición del Poli A y finalmente "corte y empalme".^{38,40}

El primer paso consiste en adicionar el nucleótido guanina m7G (esta guanina está modificada en 7 metil guanina o guanilato) en el extremo 5' del primer nucleótido (generalmente una adenina). La función de este CAP es reconocer el primer codón para iniciar la traducción del ARNt.^{38,40}

El siguiente paso es la adición de 200 a 250 adeninas en el extremo 3' del transcrito primario (ARNtp), esta cola de “poli-A” se le atribuyen dos funciones: la

primera es sacar el ARNm al citoplasma y la segunda función es proteger el ARNm de las endonucleasas citoplasmáticas. Estas enzimas degradan el ARNm sacando adeninas, por lo que el largo de la cola de adenina es directamente proporcional con la vida media del ARNm.^{38,40}

Para finalizar se realiza el paso de “corte y empalme” que consiste en la eliminación de fragmentos del ARNtp que no intervienen en la síntesis de la proteína llamados intrones* y en el empalme o unión de los fragmentos que harán parte del ARNm llamados exones†. Este proceso se hace para que corresponda la secuencia de codones que se complementan con los del ARNt.^{38,40}

En la traducción el ARNt localiza a los aminoácidos que se encuentran en el citoplasma y los transfiere a los ribosomas, donde cada aminoácido es colocado en el lugar que corresponde. Los aminoácidos son “ensamblados” por el ARNr para formar cadenas de aminoácidos llamados polipéptidos, que a su vez formarán a las proteínas.³⁹

Existen algunos polimorfismos que interfieren en la actividad transduccional o transcripcional del ARN, los cuales serán explicados con más detalle en el apartado siguiente.

2.8 Polimorfismos genéticos

Las mutaciones son cambios en la secuencia del ADN que pueden ser originados por errores en los mecanismos de replicación y reparación del ADN, así

* Intrón es el fragmento que no se traduce.

† Exón es el fragmento que se traduce.

como por factores ambientales. Algunas de las mutaciones pueden tener efectos dañinos y causar enfermedades, algunas otras son reflejo de la evolución y confieren mejoras adaptativas.^{32,41}

Las mutaciones dan lugar a polimorfismos, los cuales proveen variación alélica entre individuos y diversidad de la misma especie. Un polimorfismo es considerado como tal cuando la frecuencia de uno de sus alelos en la población es superior al 1%.³⁵

Un polimorfismo se caracteriza cuando ciertos individuos presentan nucleótidos distintos o variantes en una posición concreta del genoma, que se denomina locus. A cada posible variante se le denomina alelo (*Figura 9*).^{42,43}

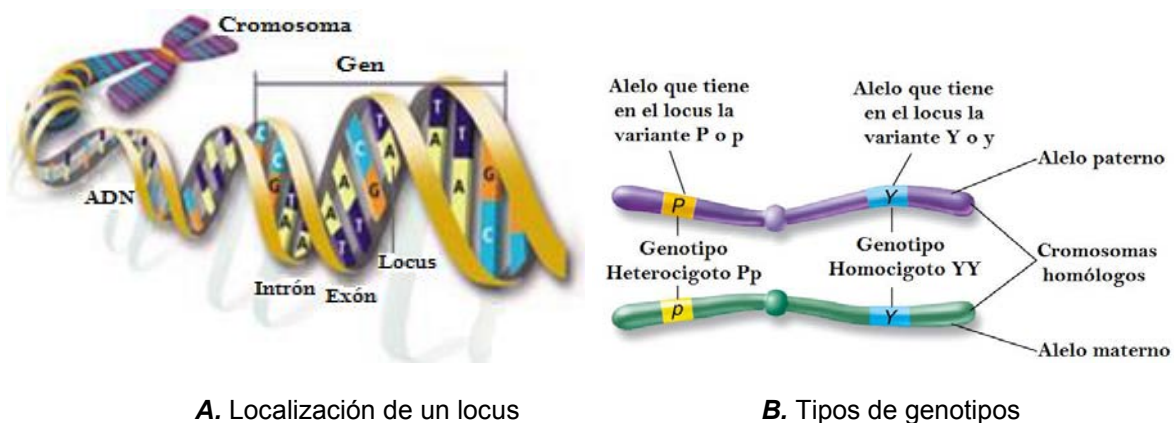


Figura 9. Representación de un cromosoma, gen, locus y alelos. **A.** Localización del locus de un gen. Un gen está formado por exones, intrones y regiones promotoras susceptibles a SNP's; **B.** Tipos de genotipos: Variaciones de un SNP's en un locus dan lugar a las variaciones alélicas (Modificado de Losos, 2005).

Hay varios tipos de polimorfismos (inserciones, deleciones, cambios en el número de secuencias repetidas), pero los más frecuentes son los polimorfismos de nucleótido simple (SNP's, del inglés single nucleotide polymorphism).^{32,41}

En el genoma humano, existen alrededor de 10 millones de SNP's. Las frecuencias de ciertas variaciones genéticas pueden diferir ampliamente en la

población. Es decir, algunas enfermedades autosómicas recesivas que son comunes en un grupo poblacional, pueden ser raras en otros. Esto puede deberse a una ventaja selectiva de un alelo o a un efecto fundador[^] en poblaciones pequeñas. Ciertas enfermedades genéticas son relativamente frecuentes en las poblaciones con efecto fundador, por ejemplo, Finlandia representa una población pequeña en la cual se producen varias enfermedades recesivas raras en frecuencia mucho mayor que cualquier otra parte del mundo, como cornea plana congénita, nefrosis congénita de tipo finlandés y displasia esquelética distrofica.³⁵

2.8.1 Clasificación de los SNP's

Según su localización en el genoma, los SNP's se clasifican en: iSNP, si están localizados en regiones intrónicas; cSNP, en regiones codificantes (exones); rSNP, en regiones reguladoras, y gSNP, localizados en regiones intergenómicas (*Figura 10*).⁴¹

[^] Cuando se funda una nueva población a partir de una pequeña muestra de la población original [grupo fundador] (por ejemplo, en la colonización de unos pocos individuos de una población continental de una isla no habitada anteriormente), las frecuencias alélicas en el grupo fundador pueden ser diferentes de las de la población de la cual proceden. Como consecuencia, el reservorio génico de la nueva población tendrá una composición distinta del reservorio de la población de origen.³⁶

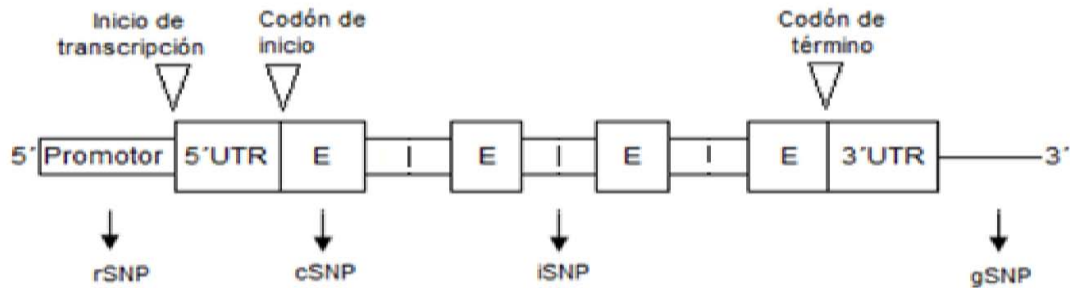


Figura 10. Diferentes tipos de polimorfismo de nucleótido simple según su localización en el gen. Abreviaciones: E: exones; I: Intrones; UTR: Regiones no codificante (Tomado de Checa, 2007).

Los SNP's pueden estar presentes en regiones codificantes y provocar un cambio en un aminoácido; a este tipo de SNP's se les conoce como "no sinónimos". Este tipo de SNP's provocan variaciones funcionales que pueden producir alguna enfermedad o susceptibilidad a ésta.⁴¹

Los SNP's no sinónimos pueden estar localizados en la región promotora del gen, influenciando la actividad transcripcional del gen (modulando la unión de factores de transcripción), en intrones (modulando la edición del mensaje para regular la traducción), en sitios de "corte y empalme" (sitios donde ocurre la eliminación de intrones y unión de exones) o en regiones intragénicas.⁴¹

Otro tipo de SNP's son los llamados "sinónimos" (o silenciosos) los cuales no alteran la cadena de aminoácidos que producen; sin embargo, algunos de estos polimorfismos pueden tener consecuencias funcionales.⁴¹

Los alelos de los SNP's se clasifican en: alelo principal "silvestre" (el más frecuente en la población) y alelo polimórfico o mutante (el menos frecuente). Debido a que los humanos son diploides, un individuo puede tener uno de tres genotipos: homocigoto para el alelo más frecuente (silvestre), homocigoto para el alelo menos

frecuente (mutante o polimórfico) y el que tiene un alelo silvestre y un alelo polimórfico (heterocigoto).^{32,41}

Cabe mencionar que la variabilidad fenotípica de cada individuo, así como la susceptibilidad o la resistencia individual a distintas enfermedades, radica principalmente en los SNP's y en menor grado a inserciones, deleciones, secuencias repetidas y/o rearrreglos cromosómicos.⁴¹

2.9 Estudios de asociación genética

La descripción estadística de un polimorfismo consiste, en primer lugar, en estimar la prevalencia de cada alelo y de cada genotipo posible en la población, en nomenclatura genética se denomina estimar las frecuencias alélicas y genotípicas respectivamente.⁴²

Los estudios de asociación genética tienen como propósito determinar el efecto de los factores genéticos sobre las enfermedades y sus posibles interacciones con los elementos del medio ambiente.³³

Al realizar un análisis de asociación se debe comprobar si la muestra de controles cumple con el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg (como representantes de la población general). El principio de equilibrio de Hardy-Weinberg determina las frecuencias que deben observarse para cada genotipo en la población en función de las frecuencias de los alelos.⁴²

El principio del equilibrio de Hardy-Weinberg dice que en condiciones habituales, si la transmisión de los alelos de los progenitores a los descendientes es independiente y no ocurren fenómenos distorsionadores, como la aparición frecuente

de nuevas variaciones genéticas o la selección de alelos, la probabilidad de observar una combinación de alelos concreta (un genotipo) depende del producto de las frecuencias de cada alelo.⁴²

En el caso de que se observara una desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg se debería revisar el método de genotipificación, pues en ocasiones se producen sesgos al interpretar los resultados por ser más fácil de detectar un genotipo que otros. Otras posibilidades son que los individuos no sean independientes (p. ej., por consanguinidad) o que se dé una selección de un alelo (p. ej., por estar asociado con la longevidad). Tampoco debe olvidarse que si empleamos un nivel de significación del 5%, por azar, puede observarse falta de ajuste a lo esperado, aunque la condición de transmisión de alelos con independencia sea correcta en la población del estudio. En la muestra de casos es posible que no se cumpla el equilibrio de Hardy-Weinberg; ello puede ser indicativo de que el polimorfismo pueda estar asociado con la enfermedad.⁴²

Cuando se evalúa el efecto de la variación de un gen sobre un evento, o cuando no se conoce el genotipo de riesgo de cierta enfermedad en una población específica, se puede realizar bajo la estructura de cinco posibles modelos de herencia: I) dominante, II) recesivo, III) sobredominante, IV) codominante y V) aditivo.³³

Para este trabajo, el modelo dominante compara la susceptibilidad del genotipo CC contra los que tienen al menos un alelo T (CC vs CT+TT). En el modelo recesivo se compara la del genotipo TT contra los que tienen al menos un alelo C (TT vs CT+CC). En el modelo sobredominante se compara la del heterocigoto CT contra los homocigotos CC y TT (CT vs CC+TT). En el modelo codominante cada

genotipo proporciona una susceptibilidad diferente y no aditiva. Por último, en el modelo aditivo uno de los dos alelos modifica la susceptibilidad en cantidad aditiva, por ejemplo, los homocigotos CC tienen el doble de susceptibilidad que los heterocigotos CT.³³

Un nivel adicional de variabilidad genética lo constituyen los haplotipos, los cuales están compuestos por la combinación de un conjunto de SNP's en diferentes loci a lo largo de un mismo cromosoma que son heredados como una unidad. Los haplotipos nos permiten localizar variaciones genéticas que pueden ser causantes de alguna enfermedad mediante métodos de análisis de ligamiento. También posibilitan conocer asociaciones estadísticas entre dos SNP's en el genoma, conocido como desequilibrio de ligamiento. Este desequilibrio de ligamiento puede ser entendido como la asociación entre los SNP's.⁴¹

En la actualidad se han venido realizando esfuerzos por identificar y analizar los polimorfismos que confieren susceptibilidad a enfermedades complejas (como la EP).³³ Los estudios de casos y controles se utilizan para evaluar asociaciones entre la variación en genes candidatos y enfermedades complejas porque arrojan información sólida acerca de factores de riesgo ambientales, bioquímicos o genéticos después de que ha ocurrido la enfermedad de interés.³³

2.10 Gen 5HTR2A

En este estudio el gen candidato fue el 5HTR2A y se evaluó si existe alguna asociación con el desarrollo de depresión en la EP.

El gen 5HTR2A se localiza en el brazo largo del cromosoma 13 (13q14.1-14.2) (Figura 11) y se encarga de la expresión de los receptores 5-HT_{2A}.^{44,45} En dicho gen se ha descrito un polimorfismo muy frecuente en el exón 1, el T102C (rs6313) donde se sustituye una citosina por una timina en el nucleótido 102 (Figura 12).^{44,45,46}

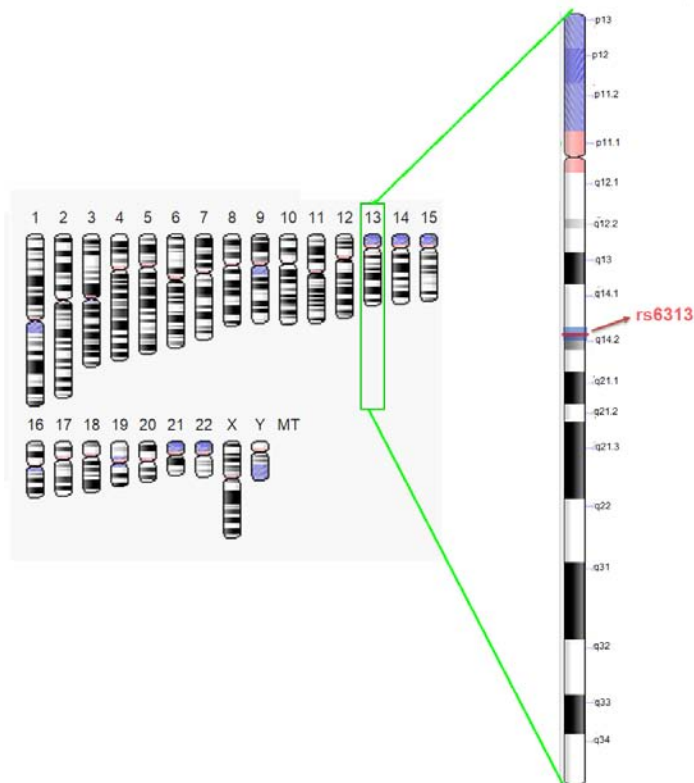


Figura 11. Localización del polimorfismo rs6313, T102C
(Modificado de Ensembl, 2014).

La sustitución de la base nitrogenada de C a T en el nucleótido 102 no altera la secuencia de aminoácidos del receptor 5-HT_{2A} (SNP sinónimo), lo que significa que los receptores codificados por los alelos "C" y "T" son idénticos pero pueden cuantitativamente diferir su expresión.^{47,48}

esquizofrenia,^{47,48,49,50} comportamiento suicida,^{29,46,51,53,54} alcoholismo y abuso de drogas,³⁰ trastorno bipolar,^{55,56} psicosis⁵² y trastorno de síntomas somáticos.⁵⁷

Existen estudios donde se ha descrito mayor frecuencia del alelo C del rs6313 en pacientes con depresión mayor que realizan intentos suicidas o tienen ideación suicida.^{29,46,51} Reportan que la severidad de la depresión mayor aumenta en pacientes con genotipo CT y CC en comparación con los individuos que tienen genotipo TT.²⁹

En el estudio de Cao y cols. (2014) se encontró asociación entre el polimorfismo rs6313 con el alcoholismo y la dependencia de heroína.³⁰ Síntomas depresivos se mantuvieron como predictores en las recaídas después del tratamiento en hombres alcohólicos con genotipo CC (2.3 más veces que aquellos que tenían el alelo T, OR = 2.26, IC al 95 % = 1.3-4.1).⁵⁸ También se ha descrito que hombres alcohólicos con el genotipo CC tienen mayor impulsividad y menor autocontrol comparado con aquellos que tienen el genotipo TT.^{58,59}

Se ha demostrado que los niveles de expresión de ARNm y proteínas en corteza es menor en individuos que portan el alelo C del polimorfismo rs6313 en relación a los que tienen el alelo T (alrededor de un 20 % menos).^{48,60} Khait y cols. (2005) reportó la asociación del genotipo TT con un mayor número de receptores 5HT_{2A} en plaquetas en los sujetos control pero no en los sujetos con trastornos psiquiátricos.⁶¹ Por otro lado, un estudio más reciente de Stoltenberg y cols. (2012) concluyó que el genotipo CC está asociado con la disminución de receptores 5-HT_{2A} en el SNC.⁵⁹

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La EP es la segunda patología neurodegenerativa progresiva y crónica relacionada con la edad avanzada después del Alzheimer, afecta aproximadamente a 30 millones de personas en todo el mundo.¹ En México, se calcula que cerca del 1% de la población mayor de 60 años y del 4% de la población mayor de 80 años la padece.² La depresión es la co-morbilidad neuropsiquiátrica más frecuente en la EP, se encuentra presente en alrededor del 35-40% de los pacientes con EP.¹³ Se ha demostrado que los síntomas no motores pueden reducir la calidad de vida en un mayor grado que los síntomas motores.⁶

Por otra parte, el alelo C del polimorfismo rs6313 del gen que expresa los receptores de serotonina 5-HT_{2A}, está posiblemente asociado al desarrollo y severidad de la depresión mayor. Se ha reportado que la severidad de la depresión mayor aumenta en pacientes con genotipo CT y CC en comparación con los individuos que tienen genotipo TT.²⁹

Existe alta incidencia que se desarrolle primero depresión antes de presentarse la EP clínicamente.¹³ Este aspecto nos permitirá utilizar este polimorfismo en nuestra población como posible biomarcador genético, con el cual se podrá conocer la susceptibilidad de padecer depresión mayor en pacientes con EP, lo que podría ayudar a realizar un diagnóstico temprano y así mejorar la calidad de vida del paciente.

Por lo tanto, en este trabajo se investigó si existe asociación entre el polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* y la depresión mayor en la población mexicana con EP.

4. HIPÓTESIS DEL TRABAJO

Si existe diferencia estadísticamente significativa en la distribución de las frecuencias alélicas o genotípicas del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* comparando el grupo EP con depresión mayor contra el grupo EP sin depresión mayor, entonces este polimorfismo podrá ser asociado a la depresión mayor en la EP en población mexicana.

5. OBJETIVOS

General:

Analizar la asociación del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* con el desarrollo de la depresión mayor en pacientes con EP en población mexicana.

Específicos:

- Analizar la asociación del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* con la EP en población mexicana.
- Determinar si factores demográficos, clínicos y genéticos están relacionados con la EP en población mexicana.
- Analizar por género la asociación del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* con el desarrollo de la depresión mayor en la EP en población mexicana.

6. MATERIAL Y MÉTODO

6.1 Diseño experimental:

Observacional, Retrospectivo, Transversal, Comparativo.

6.2 Población de estudio:

- 30 pacientes de EP sin depresión mayor.
- 30 pacientes de EP con depresión mayor.
- 30 controles sin enfermedades neurológicas o neuropsiquiátricas.

6.3 Criterios de inclusión:

- Individuos mestizos mexicanos.*⁶²
- Pacientes diagnosticados clínicamente con EP.
- Pacientes con EP diagnosticados clínicamente con depresión mayor.
- Sujetos que no hayan sido diagnosticados con enfermedades neurológicas o neuropsiquiátricas.

6.4 Criterios de exclusión:

- Individuos que no sean mestizos mexicanos.*
- Pacientes con EP diagnosticados medicamente con distimia.
- Individuos diagnosticados medicamente con depresión mayor pero que no padezcan EP.
- Pacientes y/o individuos que no deseen participar en el estudio.
- Pacientes y/o individuos que por algún motivo no sea posible extraer muestra sanguínea.

*Los mestizos-mexicanos son el resultado de la mezcla entre nativos americanos y españoles con una contribución pequeña de los grupos africanos. En este estudio se consideró mestizo mexicano a aquel individuo que declare tener ambos padres y cuatro abuelos nacidos en México, y que no se reconozcan como inmigrantes recientes.⁶²

6.5 Criterios éticos:

- Declaración de Helsinki, Asociación Médica Mundial (Corea, 2008).⁶³
- Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos, Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) (París, 1977).⁶⁴
- Declaración Internacional sobre los Datos Genéticos Humanos, UNESCO (2003).⁶⁵

6.6 Variable dependiente:

Polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* que expresa para la producción del receptor de serotonina 5-HT_{2A}.

6.7 Variable independiente:

Desarrollo de la depresión mayor en la EP.

6.8 Metodología

6.8.1 Sujetos de estudio

Se analizó una muestra poblacional de 90 sujetos de estudio (30 sujetos con EP que no presentan depresión, 30 sujetos con EP con diagnóstico de depresión mayor y 30 sujetos sin EP y sin depresión).

Todos los sujetos participaron voluntariamente, firmando un consentimiento informado donde se explica el objetivo del estudio, la utilidad, destino y almacenamiento de las muestras biológicas, así como los beneficios y riesgos

inherentes al mismo. Los participantes del estudio llenaron un cuestionario sociodemográfico donde se indagaba sobre su ancestría, antecedentes médicos personales y familiares de enfermedades neurológicas y neuropsiquiátricas, patologías concomitantes bajo tratamiento médico, entre otros datos.

Los sujetos con EP fueron diagnosticados clínicamente por especialistas de la Clínica de Movimientos Anormales del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez” (INNN). Los médicos psiquiatras hicieron el diagnóstico de la depresión a través de síntomas clínicos y con ayuda de las pruebas neuropsicológicas siguientes: inventario de depresión de Beck, escala de depresión de Montgomery–Åsberg y escala de depresión geriátrica abreviada (GDS).

Los sujetos para el grupo control se obtuvieron en población abierta. Llenaron un cuestionario sociodemográfico, se les extrajo la muestra sanguínea y fueron evaluados con las mismas pruebas neuropsicológicas que a los pacientes con EP.

El protocolo general fue aprobado por el Comité de Bioética y el Comité de Investigación del INNN. El desarrollo experimental fue realizado en el laboratorio de Neurotoxicología de dicha institución.

6.8.2 Genotipificación de los sujetos de estudio.

La muestra de sangre periférica (6 mL) se recolectó en tubos Vacutainer de tapa amarilla con ácido citrato dextrosa (ACD) por punción venosa del brazo, a la cual se le extrajo el ADN por el método salino.⁶⁶ Se corroboró su integridad por electroforesis en gel de agarosa. Se cuantificó la cantidad y pureza del ADN por espectrofotometría UV a 260/280 nm a través del software Gen 5 v. 1.11.5 (Bio Tek

instruments, Estados Unidos de América [EUA]) del espectrofotómetro para microplacas Epoch (Bio Tek instruments, EUA).

Se analizó el SNP rs6313 del gen *5HTR2A* de la región exónica (*Cuadro 2*) a través de la genotipificación de los sujetos, la cual se realizó por dos técnicas diferentes: secuenciación por método de Sanger³⁶ y comparación de curvas de disociación de alta resolución (HRM).³⁷

Al corroborar que los resultados de la técnica HRM coinciden con la técnica de secuenciación por método de Sanger, se validó la técnica HRM como herramienta para la genotipificación de los sujetos de estudio.

Cuadro 2. Características del polimorfismo rs6313.⁴⁵

ID SNP	Gen	Alelo (Alelo variante)	Tipo de variante	Ubicación	Posición en región codificante de proteína	Amino-ácido	Codones
<i>rs6313</i>	<i>5HTR2A</i>	C (T)	Variante sinónima	Exón 1 del 13q14.1-14.2	102	Serina	TCC/TCT

6.8.2.1 Secuenciación por método de Sanger.

6.8.2.1.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Para realizar la secuenciación por método de Sanger³⁶, primero se llevó a cabo una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de 2.5 µL de ADN en el termociclador Axygen Maxygene II (Corning Life Sciences, EUA). Los oligonucleótidos empleados se diseñaron a partir de la secuencia reportada en la

base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) con identificación del polimorfismo rs6313.⁴⁵

6.8.2.1.2 Reacción de secuenciación

El producto de PCR se purificó mediante el kit gel de extracción 500 de QIAGEN II (QIAGEN, Holanda). Posteriormente, 3 µL del producto de PCR purificado fueron amplificados con el oligonucleótido forward en presencia de dideoxinucleótidos contenidos en el BigDye® Terminator v 3.1 (Life Technologies, EUA) según los estándares del fabricante.

6.8.2.1.3 Lectura de secuencias.

El producto de la reacción de secuenciación se purificó por medio de columnas de sílice (Axygen Biosciences, EUA) para la posterior lectura en el secuenciador automático 3130 Genetic Analyzer Applied Biosystems (Life Technologies, EUA). Las secuencias se procesaron a través del software Sequencing Analysis Software v. 5.2 de Applied Biosystems (Life Technologies, USA) donde se analizaron los electroferogramas (*Figura 13*). Se corroboró la secuencia a través de la herramienta en línea Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) del NCBI.⁶⁷

Electroferogramas de las distintas variaciones genotípicas del polimorfismo rs6313.

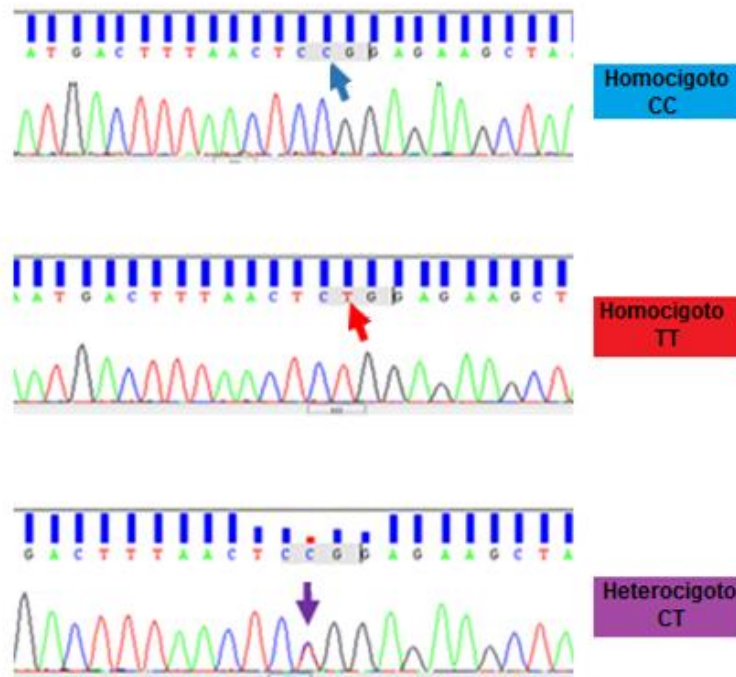


Figura 13. Electroferogramas de las muestras patrones obtenidas de la secuenciación de Sanger. Cada base nitrogenada se muestra con una curva de color diferente, siendo para adenina color verde, timina color rojo, citosina color azul y guanina color negro. La secuencia obtenida sólo varía en el SNP ej. TTTAACTC (Y) GGAGAAAG, donde la (Y) es el SNP (la posición es señalada con la flecha). En el primer caso se observa sólo una curva azul, la cual representa dos alelos con citosina (homocigoto CC); en el segundo caso se observa sólo una curva roja, la cual nos habla de dos alelos con timina (homocigoto TT); En el último caso, se observan dos curvas superpuestas (una azul y una roja), esto indica la existencia de ambos alelos (uno con citosina y otro con timina), por lo tanto, este individuo es heterocigoto CT.

6.8.2.2 Curvas de disociación de alta resolución (HRM)

Para realizar la técnica de secuenciación por HRM³⁷, se utilizaron las muestras patrón obtenidas de la secuenciación por método de Sanger para los distintos genotipos.

La técnica de HRM se realizó utilizando el fluoróforo EvaGreen en el termociclador Rotor Gene 6000 Corbett Research (QIAGEN, Holanda) con el rotor de

36 pocillos. Se analizaron las curvas de disociación a través del programa Rotor-Gene Q Series Software Corbett Research (QIAGEN, Holanda) (Figura 14).

Curva de disociación de alta resolución del polimorfismo rs6313.

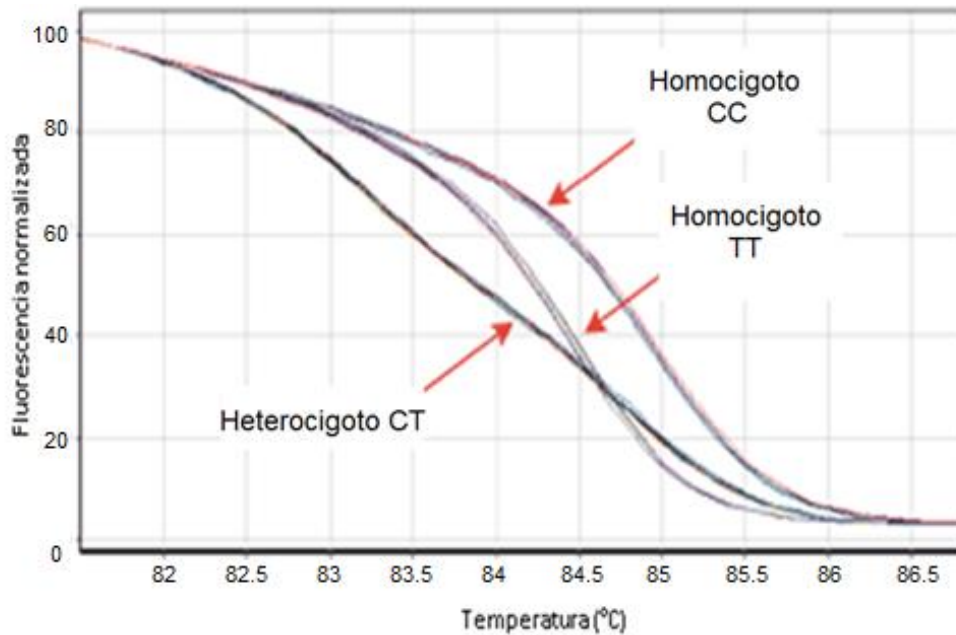


Figura 14. Curva de disociación de alta resolución. Los homocigotos se diferencian porque tienen la misma forma de curva de disociación pero a distinta temperatura (el homocigoto TT presenta menor temperatura de disociación que el homocigoto CC). En cambio, la forma de la curva del heterocigoto es diferente a la de los homocigotos, presentando temperatura de disociación menor a estos dos.

6.8.3 Análisis estadístico

Los datos clínicos, demográficos y genéticos fueron procesados con el programa estadístico SPSS Statistics for Windows Versión 24.0 (IBM, EUA) y corroborados por el programa estadístico en línea: SNPstats (Institut Català d'Oncologia, España). Las pruebas estadísticas que se realizaron en estos programas fueron: la prueba de χ^2 , prueba de U de Mann-Whitney, razón de momios

(RM) con sus respectivos intervalos de confianza (IC del 95%) y regresión logística binaria.

En este trabajo se estudió la depresión mayor asociada a la EP. Es importante corroborar primero si los factores demográficos, clínicos y genético de la población mexicana se asocian a la EP. Se tomó como factores demográficos a la edad y el género; como factores clínicos a la depresión mayor y la edad de inicio de la EP; y finalmente, como factor genético al polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A*. Este primer análisis se realizó comparando dos grupos: 1) grupo control (que no tenían enfermedades neurológicas y neuropsiquiátricas) y 2) grupo EP (todos los sujetos que presentaron EP sin tomar en cuenta si presentaban o no depresión mayor). A través de una regresión logística binomial se determinaron las razones de momios de los factores demográficos, clínicos y genético directamente con la EP. Se tomó un valor de significancia de $p < 0.05$.^{68,69}

Una vez determinada si existe alguna relación entre estos factores con la EP, se realizó un segundo análisis para determinar la asociación del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* con la depresión mayor asociada con la EP. Para este segundo análisis se tomaron en cuenta dos grupos: 1) EP sin depresión mayor (EP sin DM) y 2) EP con depresión mayor (EP con DM). Además, se realizó un análisis en mujeres y otro en hombres para determinar si existe alguna asociación género-dependiente del polimorfismo rs6313 (del gen *5HTR2A*) con la depresión mayor asociada a la EP.

Las características demográficas de cada análisis se trató de la siguiente manera: la diferencia de los promedios de edad se evaluó con la prueba U de Mann-Whitney, mientras que las diferencias de las frecuencias del género y la edad de

inicio de la EP (menor o mayor a 50 años de edad) se evaluaron con la prueba de χ^2 . Se fijó un nivel de significación menor a 0.05.

Las diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas entre los grupos de estudio de cada análisis se realizó mediante la prueba de χ^2 . Se fijó un nivel de significación menor a 0.05.^{68,69} Para las frecuencias genotípicas fueron tomados en cuenta tres modelos de herencia: 1) CC vs CT+TT, 2) CT vs CC+TT y 3) TT vs CC+CT. Para seleccionar el modelo de herencia más apropiado para explicar el comportamiento del polimorfismo se tomaron en cuenta los criterios de información Bayesiano (BIC) y de Akaike (AIC). Se seleccionó el modelo de herencia que tuviera el valor más bajo de AIC y BIC.⁷⁰

El factor de riesgo se estimó con la razón de momios (RM) manejando un intervalo de confianza (IC) del 95%. La RM se interpretó de la siguiente manera.^{68,69}

- Valor = 1 indica ausencia de asociación, no-asociación o valor nulo.
- Valores <1 indica asociación negativa, factor protector.
- Valores >1 indica asociación positiva, factor de riesgo.
- El intervalo de confianza es significativo si no incluye a la unidad, si la incluye se considera no significativo.

El equilibrio de Hardy-Weinberg fue probado en cada grupo a través de la prueba χ^2 con un intervalo de confianza del 95%. Los grupos se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg cuando el valor de la χ^2 calculada es \leq a la χ^2 tabulada (3.84).⁴²

7. RESULTADOS

7.1 Análisis del polimorfismo rs6313 del gen 5HTR2A con la EP.

Para analizar la relación del polimorfismo rs6313 (gen 5HTR2A) con la EP, la población de estudio se dividió en dos grandes grupos: 1) Sujetos control que no presentaron enfermedades neurológicas ni neuropsiquiátricas y 2) Sujetos con EP (con presencia y ausencia de depresión mayor juntos). Se obtuvo una muestra poblacional de 30 sujetos control y 60 sujetos con EP.

7.1.1 Características demográficas y clínicas

Las características demográficas y clínicas de los grupos de estudio se muestran a continuación (*Cuadro 3*):

Cuadro 3. Características demográficas y clínicas de controles vs EP.

	Control (N=30)	EP (N=60)	Sig (p)
Edad $\bar{x} \pm \sigma$	64.4 \pm 10.3	62.1 \pm 9.8	0.1
Género n (%)			
Masc	15 (50 %)	34 (57 %)	0.5
Fem	15 (50 %)	26 (43 %)	
Edad de inicio n (%)			
< 50 años	-	20 (33 %)	
\geq 50 años	-	40 (67 %)	

Abreviaciones: EP: Sujetos con Enfermedad de Parkinson; N: Tamaño de muestra; Sig: Significancia; p: nivel de significación; $\bar{x} \pm \sigma$: Media \pm desviación estándar; n: número de individuos; %: Porcentaje; Masc: Masculinos; Fem: Femeninos.

La diferencia entre las medias de edad fue calculada por la prueba U de Mann-Whitney, mientras que la diferencia en las frecuencias en género fue evaluada con la prueba de χ^2

No se presentó diferencia estadística significativa entre las edades de los grupos ($p= 0.1$). Los sujetos del grupo control tienen un promedio edad de 64.4 ± 10.3 años, por otro lado, el grupo de sujetos que presentaron EP tuvieron un promedio de edad de 62.1 ± 9.8 años.

No se obtuvo diferencia estadísticamente significativa respecto al género de los grupos ($p= 0.5$). En el grupo control hubo la misma cantidad de hombres que mujeres. En el grupo EP hubo 57 % de hombres y 43 % de mujeres.

La edad de inicio se dividió en: sujetos que presentaron EP antes de los 50 años (EP de inicio temprano) y sujetos que presentaron EP después de los 50 años (EP de inicio tardío). El 33 % de los sujetos de estudio con EP presentaron el inicio de su enfermedad antes de los 50 años de edad. El 67 % restante, presentó EP de después de los 50 años de edad.

La población del estudio es homogénea y comparable al no presentar diferencias significativas en cuanto: edad y género.

7.1.2 Relación del polimorfismo rs6313 del gen 5HTR2A con la EP.

Este estudio es relevante porque actualmente no existen reportes donde se analice la asociación del polimorfismo rs6313 con la EP en población mexicana.

El polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* describe la sustitución de una citosina por una timina en el nucleótido 102 en la región codificante del receptor de 5-HT_{2A}.^{44,45} Bajo este principio, en el estudio se hablará de dos tipos de alelos: el alelo C y el alelo T. Por lo tanto, fueron considerados tres tipos de genotipos: el homocigoto CC, el homocigoto TT y el heterocigoto CT.

En el *Cuadro 4* se aprecian las frecuencias alélicas y genotípicas del grupo control vs el grupo EP, el cálculo para el equilibrio de Hardy-Weinberg y los modelos de herencia con las razones de momios, significancias y valores de los criterios de información Bayesiano y de Akaike correspondientes.

Cuadro 4. Frecuencias alélicas y genotípicas con modelos de herencia del polimorfismo rs6313 en casos con EP y controles.

Frecuencia alélica n (%)	Control (N=30)	EP (N=60)	RM (IC del 95%)	Sig (p)	AIC	BIC
C	37 (62 %)	97 (81 %)	<u>2.6 (1.3-5.2)</u>	<u>0.005</u>		
T	23 (38 %)	23 (19 %)	<u>0.4 (0.2-0.8)</u>			
Frecuencia genotípica n (%)						
CC	11 (37 %)	39 (65 %)	<u>3.2 (1.3-8.0)</u> [≡]	<u>0.01</u> [≡]	<u>112.0</u> [≡]	<u>117.0</u> [≡]
CT	15 (50 %)	19 (32 %)	0.6 (0.2-1.1) [≠]	0.09 [≠]	115.7 [≠]	120.7 [≠]
TT	4 (13 %)	2 (3 %)	0.2 (0.04-1.3) [≈]	0.07 [≈]	115.6 [≈]	120.6 [≈]
EQ-HW	1	1				

Abreviaciones: EP: Sujetos con enfermedad de Parkinson (se englobaron a todos los sujetos con EP con presencia y ausencia de depresión mayor en un solo grupo); n: Número de individuos; %: porcentaje; N: Tamaño de muestra; RM: Razón de momios; IC del 95 %: Intervalo de confianza del 95 %; Sig: Significancia; p: nivel de significancia; AIC: Criterio de información de Akaike; BIC: Criterio de información Bayesiano; EQ-HW: Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Las diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas fueron evaluadas por la prueba de χ^2 . A través de las pruebas AIC y BIC se seleccionó el modelo de herencia que mejor justifica el comportamiento del polimorfismo.

≡ Valores obtenidos de la comparación realizada entre CC vs CT+TT. ≠ Valores obtenidos de la comparación realizada entre CT vs CC+TT. ≈ Valores obtenidos de la comparación realizada entre TT vs CC+CT.

- Frecuencias alélicas

En las frecuencias alélicas existió diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control contra el grupo EP ($p=0.005$).

En el *Cuadro 4* se observa que existió en el grupo control una frecuencia alélica de 62 % para el alelo C (37 de un total de 60 alelos) y de 38 % para el alelo T

(23 de un total de 60 alelos). En el grupo EP hubo frecuencia de 81 % para el alelo C (97 de un total de 120 alelos) y 19 % para el alelo T (23 de un total de 120 alelos).

La diferencia estadísticamente significativa se debe a que existe mayor cantidad de alelos C respecto a los alelos T en cada grupo. Asimismo, se obtuvo mayor frecuencia del alelo C en el grupo EP (81 %) respecto al grupo control (62 %). En lo referente al alelo T, se obtuvo mayor frecuencia en el grupo control (38 %) respecto al grupo EP (19 %). Por lo anterior, se describe la asociación del alelo C con la EP.

Esta asociación se corrobora con las razones de momios:

a) Existe 160 % más susceptibilidad de padecer EP si se tiene el alelo C del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* (RM= 2.6; IC del 95%= 1.3-5.2)

b) Existe 60 % menos susceptibilidad de padecer EP si se tiene el alelo T del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* (RM= 0.4; IC del 95%= 0.2-0.8).

- Frecuencias genotípicas.

En las frecuencias genotípicas existió diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control contra el grupo EP ($p=0.01$).

En el grupo control se obtuvo frecuencia de 37 % del genotipo CC (11 sujetos de un total de 30), de 50% del genotipo CT (15 sujetos de un total de 30) y de 13 % del genotipo TT (4 sujetos de un total de 30). En el grupo EP se obtuvo frecuencia de 65 % del genotipo CC (39 sujetos de un total de 60), de 32 % del genotipo CT (19 sujetos de un total de 60) y de 3 % del genotipo TT (2 sujetos de un total de 60).

En el *Cuadro 4* se observa que hay mayor frecuencia del genotipo CC en el grupo EP (65 %) comparada con el grupo control (37 %). Por otro lado, en el grupo control hubo mayor proporción del genotipo CT (50 %) que en el grupo EP (32 %). En ambos grupos, el genotipo TT fue el que presentó menor frecuencia (control= 13 % y EP= 3 %).

El modelo de herencia elegido para describir el comportamiento del polimorfismo rs6313 fue el CC vs CT+TT debido a que los criterios de información Bayesiano y de Akaike (AIC y BIC) fueron los de menor valor (AIC =112.0, BIC= 117.0) respecto al modelo CT vs CC+TT (AIC=115.7, BIC=120.7) y al modelo TT vs CC+CT (AIC=115.6, BIC=120.6).

Bajo este modelo de herencia (CC vs CT+TT) se obtuvo la asociación entre el genotipo CC y la EP ($p= 0.01$). La RM muestra que existe 220 % más susceptibilidad de padecer EP si se tiene el genotipo CC que si se tuviera el genotipo CT o TT (RM= 3.2; IC del 95%= 1.3 - 8.0).

- Equilibrio de Hardy-Weinberg

Se calculó el equilibrio de Hardy-Weinberg en cada grupo a través de la prueba de χ^2 . En ambos grupos la χ^2 obtenida fue de 1. Los valores obtenidos son menores a la χ^2 tabulada (3.84), demostrando así, que ambos grupos se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg.

7.1.3 Relación de factores demográficos, clínicos y genéticos con la EP.

Se realizó una regresión logística binaria para determinar si la depresión mayor, el género, la edad de inicio de la EP y el polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* están relacionadas con la EP. En el *Cuadro 4*, se detectó que el modelo de herencia CC vs CT+TT era el adecuado para describir el comportamiento del polimorfismo, por lo cual, las RM de la regresión logística binaria se calcularon bajo este modelo (*Cuadro 5*). Todas las características demográficas, clínicas y genéticas fueron estudiadas, pero sólo se muestran aquellas que presentaron asociación con la EP: el genotipo CC del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* y la edad de inicio de la EP (EI). El género y la depresión mayor no presentaron diferencias estadísticamente significativas para aumentar la susceptibilidad a la EP con esta prueba estadística.

Cuadro 5. Asociación de variables demográficas, clínicas y genéticas con la EP (ajustado por género y depresión mayor)

Variable	RM (IC del 95%)	Sig
Genotipo CC	4.5 (1.4 - 14.8)	0.01
EI < 50 años	7.6 (1.4 – 41.9)	0.02

*Abreviaciones: RM: Razón de momios; IC del 95%: Intervalo de confianza del 95%; Sig: Significancia; EI: Edad de inicio; Los datos fueron calculados por regresión logística binaria.

Al relacionar el genotipo CC del polimorfismo rs6313 con la EP se obtiene la RM ajustada de 4.5 (IC del 95%= 1.4 – 14.8). Es decir, existe 350 % más susceptibilidad de presentar EP si se tiene el genotipo CC del polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*).

Para poder analizar la edad de inicio de la EP como factor de riesgo, se consideró la edad actual de los sujetos control. Al vincular el genotipo CC del polimorfismo rs6313 con la edad de inicio de la EP < 50 años (Genotipo CC + EI < 50 años) se obtiene RM de 34.2. Esta RM resulta de la multiplicación de la RM del genotipo CC (4.5) y la RM de la edad de inicio de la EP (7.6). La RM resultante nos indica que existen 34.2 veces más probabilidad de presentar EP antes de los 50 años (EP de inicio temprano) si se tiene el genotipo CC del polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*).

7.2 Análisis del polimorfismo rs6313 del gen 5HTR2A con depresión mayor en la EP.

Para poder visualizar la asociación del polimorfismo rs6313 con el desarrollo de la depresión mayor en pacientes que tienen EP se compararon los sujetos de estudio que presentaron EP con presencia y ausencia de depresión mayor. En este análisis se tomaron en cuenta dos grupos: el grupo EP con DM y el grupo EP sin DM.

7.2.1 Características demográficas y clínicas

Las características demográficas y clínicas de los grupos de estudio se muestran a continuación (Cuadro 6):

Cuadro 6. Características demográficas y clínicas de EP sin DM vs EP con DM.

	EP sin DM (N= 30)	EP con DM (N= 30)	Sig (p)
Edad $\bar{x} \pm \sigma$	61.4 \pm 11.6	62.9 \pm 7.8	0.6
Género n (%)			
Masc	19 (63 %)	15 (50 %)	0.3
Fem	11 (37 %)	15 (50 %)	
Edad de inicio n (%)			
< 50 años	11 (37 %)	9 (30 %)	0.6
\geq 50 años	19 (63 %)	21 (70 %)	

Abreviaciones: EP sin DM: Enfermedad de Parkinson sin depresión mayor; EP con DM: Enfermedad de Parkinson con depresión mayor; N: Tamaño de muestra; Sig: Significancia; p: nivel de significación; $\bar{x} \pm \sigma$: Media \pm desviación estándar; n: número de individuos; %: Porcentaje; Masc: Masculinos; Fem: Femeninos.

La diferencia entre las medias de edad fue calculada por la prueba U de Mann-Whitney, mientras que las diferencias entre frecuencias en género y edad de inicio fueron evaluadas con la prueba de χ^2 .

No se presentó diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de edad de los grupos ($p=0.6$). Los sujetos del grupo EP sin DM tienen en promedio edad 61.4 ± 11.6 años, por otro lado, los del grupo EP con DM tuvieron 62.9 ± 7.8 años.

No se obtuvo diferencia estadísticamente significativa respecto al género de los grupos ($p= 0.3$). En el grupo EP con DM hubo la misma cantidad de hombres que mujeres. En el grupo EP sin DM el 63 % de los sujetos de estudios eran hombres y el 37 % mujeres.

No existió diferencia estadística significativa respecto a la edad de inicio de la EP entre los grupos ($p= 0.6$). Se presentó frecuencia similar de sujetos que presentaron EP antes de los 50 años en el grupo EP sin DM (37 %) respecto al grupo EP con DM (30 %). Del mismo modo, hubo similar frecuencia de sujetos que presentaron EP después de los 50 años en estos dos grupos (EP sin DM= 63 % vs EP con DM= 70 %).

La población del estudio es homogénea y comparable al no presentar diferencias significativas en cuanto: edad, género y edad de inicio de la EP.

7.2.2 Relación del polimorfismo rs6313 del gen 5HTR2A con la depresión mayor en la EP.

Este estudio es relevante porque actualmente no existen reportes donde se analice la asociación del polimorfismo rs6313 con la depresión mayor en la EP en población mexicana.

En el *Cuadro 7* se aprecian las frecuencias alélicas y genotípicas del grupo EP sin DM vs EP con DM, el cálculo para el equilibrio de Hardy-Weinberg y los modelos de herencia con las razones de momios, significancias y valores de los criterios de información Bayesiano y de Akaike correspondientes.

Cuadro 7. Comparación de las frecuencias alélicas y de las genotípicas entre el grupo EP con DM vs EP sin DM con modelos de herencia del polimorfismo rs6313.

Frecuencias alélicas n (%)	EP sin DM	EP con DM	RM (IC del 95%)	Sig (p)	AIC	BIC
C	50 (83 %)	47 (78 %)	0.7 (0.3-1.8)	0.5		
T	10 (17 %)	13 (22 %)	1.4 (0.5-3.4)			
Frecuencias genotípicas n (%)						
CC	22 (73 %)	17 (57 %)	0.5 (0.2-1.4) [≡]	0.2 [≡]	85.3 [≡]	89.5 [≡]
CT	6 (20 %)	13 (43 %)	3.0 (1.0-9.6) [≠]	0.05 [≠]	83.3[≠]	87.5[≠]
TT	2 (7 %)	0 (0 %)	na* (0.0-na) [≈]	0.09 [≈]	84.3 [≈]	88.5 [≈]
EQ-HW	0.1	0.3				

Abreviaciones: EP sin DM: Enfermedad de Parkinson sin depresión mayor; EP con DM: Enfermedad de Parkinson con depresión mayor; RM: Razón de momios; IC del 95%: Intervalo de confianza del 95%; Sig: Significancia; p: Nivel de significancia; AIC: Criterio de información de Akaike; BIC: Criterio de información Bayesiano; n: número de individuos; %: Porcentaje; EQ-HW: Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Las diferencia de frecuencias alélicas y genotípicas fue evaluada por la prueba de χ^2 . A través de las pruebas AIC y BIC se seleccionó el modelo de herencia que mejor justifica el comportamiento del polimorfismo.

≡ Valores obtenidos de la comparación realizada entre CC vs CT+TT. ≠ Valores obtenidos de la comparación realizada entre CT vs CC+TT. ≈ Valores obtenidos de la comparación realizada entre TT vs CC+CT.

* No se pudo calcular el RM ni el IC porque se tiene valores nulos.

Se calculó el equilibrio de Hardy-Weinberg para cada grupo a través de la prueba de χ^2 . En el grupo EP sin DM la χ^2 fue de 0.1 y en el grupo EP con DM de 0.3.

Los valores obtenidos son menores a la χ^2 tabulada (3.84), demostrando así, que los dos grupos se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg.

En el *Cuadro 7* se muestra que no se encontraron diferencias significativas en las frecuencias alélicas ni genotípicas, indicando que no existe asociación del polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*) con la depresión mayor asociada a la EP.

El modelo de herencia elegido para describir el comportamiento del polimorfismo rs6313 fue el CT vs CC+TT debido a que el AIC y el BIC fueron los de menor valor (AIC =83.3, BIC= 87.5) respecto al modelo CC vs CT+TT (AIC=85.3, BIC=89.5) y al modelo TT vs CC+CT (AIC=84.3, BIC=88.5). Bajo este modelo, la significancia es limítrofe y el IC al 95% incluye la unidad, por ello se descarta alguna asociación del genotipo CT con la depresión mayor en la EP.

No obstante, al realizar el análisis cualitativo en las frecuencias alélicas y genotípicas se observó un hecho interesante. En el *Cuadro 7* se reporta que en el grupo EP con DM existe:

- a) Mayor frecuencia del alelo T (22 %) y menor frecuencia del alelo C (78 %) respecto al grupo EP sin DM (T= 17% y C= 83 %).
- b) No presenta homocigotos TT (0 %) a diferencia del grupo EP sin DM que presentó un 7 %.
- c) Posee una mayor heterocigocidad (43 %) respecto al grupo EP sin DM (20 %).
- d) Una menor frecuencia del genotipo CC (57 %) respecto al grupo de EP sin DM (73 %).

Las frecuencias alélicas podrían hacernos pensar que existe una relación del alelo T con la depresión mayor en la EP. Sin embargo, al ver las frecuencias

genotípicas, nos damos cuenta que existe mayor frecuencia del alelo T por la existencia de un mayor porcentaje de heterocigocidad en la muestra poblacional.

Existen estudios donde indican que el genotipo de riesgo para el desarrollo de enfermedades neuropsiquiátricas es el genotipo CC.^{29,46,49,51,58} Sin embargo, en este estudio se encontró mayor frecuencia de este genotipo en el grupo EP sin DM. Otro hecho de notarse es que el grupo EP con DM no presentó el genotipo TT, además, la heterocigocidad fue mayor respecto al grupo EP sin DM.

Con estos hechos se puede señalar que:

- a) Existe un factor de protección respecto al genotipo TT.
- b) Existe un factor de riesgo en cuanto al genotipo CT.

Sin embargo, al no obtener diferencias estadísticamente significativas en la muestra analizada, no se pueden concluir fehacientemente dichas asociaciones. Resultaría importante verificar este hallazgo aumentando la muestra poblacional.

Al no encontrarse diferencias significativas en las frecuencias alélicas y genotípicas en la comparación del grupo EP sin DM y el grupo EP con DM, se realizó un análisis por género. Esto con el fin de poder identificar si el polimorfismo tiene asociación con la depresión mayor en la EP dependiente del género.

7.2.3 Análisis por género.

La población de estudio con EP se dividió por género, obteniéndose 34 hombres (19 EP sin DM y 15 EP con DM) y 26 mujeres (11 EP sin DM y 15 EP con DM). Al igual que el análisis anterior se compararon los grupos EP con DM y EP sin DM para poder asociar la depresión mayor al polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A*.

7.2.3.1 Femenino

Se analizó el comportamiento del polimorfismo rs6313 en la población femenina. En la muestra poblacional se obtuvieron 11 mujeres en el grupo EP sin DM y 15 en el grupo EP con DM.

En el *Cuadro 8* se aprecian las frecuencias alélicas y genotípicas de la población femenina, el cálculo para el equilibrio de Hardy-Weinberg y los modelos de herencia con las razones de momios, significancias y valores de los criterios de información Bayesiano y de Akaike.

Cuadro 8. Frecuencias alélicas y genotípicas con modelos de herencia del rs6313 en el género FEMENINO

Frecuencia alélica n (%)	EP sin DM (N= 11)	EP con DM (N= 15)	RM (IC del 95%)	Sig (p)	AIC	BIC
C	17 (77 %)	26 (87 %)	1.9 (0.4-8.1)	0.4		
T	5 (23 %)	4 (13 %)	0.5 (0.1-2.2)			
Frecuencia genotípica n (%)						
CC	7 (64 %)	11 (73 %)	1.6 (0.3-8.4) [≡]	0.6 [≡]	39.1 [≡]	41.7 [≡]
CT	3 (27 %)	4 (27 %)	1.0 (0.2-5.6) [≠]	1.0 [≠]	39.4 [≠]	41.9 [≠]
TT	1 (9 %)	0 (0 %)	na* (0.0-na) [≈]	0.2 [≈]	37.7[≈]	40.2[≈]
EQ-HW	0.4	1				

Abreviaciones: EP sin DM: Enfermedad de Parkinson sin depresión mayor; EP con DM: Enfermedad de Parkinson con depresión mayor; RM: Razón de momios; IC del 95%: Intervalo de confianza del 95%; Sig: Significancia; p: Nivel de significancia; AIC: Criterio de información de Akaike; BIC: Criterio de información Bayesiano; n: Número de individuos; %: Porcentaje; N: Tamaño de muestra; EQ-HW: Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Las diferencia de frecuencias alélicas y genotípicas fue evaluada por la prueba de χ^2 . A través de las pruebas AIC y BIC se seleccionó el modelo de herencia que mejor justifica el comportamiento del polimorfismo.

≡ Valores obtenidos de la comparación realizada entre CC vs CT+TT. ≠ Valores obtenidos de la comparación realizada entre CT vs CC+TT. ≈ Valores obtenidos de la comparación realizada entre TT vs CC+CT.

* No se pudo calcular el RM ni el IC porque se tiene valores nulos.

En el equilibrio de Hardy-Weinberg, el grupo EP sin DM tuvo un valor de χ^2 de 0.4, mientras que el grupo EP con DM tuvo un valor de 1.0. Ambos grupos se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg porque tienen valores de χ^2 menores a la χ^2 tabulada (3.84).

En la población femenina de estudio no existieron diferencias significativas alélicas ni genotípicas. Sin embargo, se pudo observar una tendencia en la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas.

En la distribución de las frecuencias alélicas de la población femenina se obtuvieron los siguientes datos:

- a) El grupo EP sin DM tuvo una frecuencia de 77% del alelo C (17 alelos de un total de 22 alelos) y de 23% del alelo T (5 alelos de un total de 22 alelos).
- b) Por último, en el grupo EP con DM se encontró una frecuencia de 87 % del alelo C (26 alelos de un total de 30 alelos) y de 13 % del alelo T (4 alelos de un total de 30 alelos).

Referente a la distribución de las frecuencias genotípicas:

- a) En el grupo EP sin DM el 64 % tiene el genotipo CC (7 mujeres), 27 % tiene el genotipo CT (3 mujeres) y el 9 % restante tiene el genotipo TT (1 mujer).
- b) Por último, en el grupo EP con DM el 73 % tiene el genotipo CC (11 mujeres) y el 27 % tiene el genotipo CT (4 mujeres). Este grupo no presentó ninguna mujer con el genotipo TT.

El modelo de herencia elegido para describir el comportamiento del polimorfismo rs6313 fue el TT vs CC+CT. Bajo este modelo no se pudo calcular el IC

al 95 % por la ausencia de individuos con el genotipo TT en el grupo EP con DM. Sin embargo, al no presentar diferencia estadísticamente significativa ($p=0.2$), se descarta alguna asociación entre el polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* y la depresión mayor en la EP en población femenina.

Por otro lado, si se analizan los datos de forma cualitativa se puede observar una relación inversamente proporcional del genotipo CC respecto al genotipo TT y alta heterocigocidad en el grupo EP con DM:

- a) En el grupo de EP con DM hubo mayor proporción del genotipo CC (73 %) y no presentó ni un solo caso de genotipo TT (0 %) respecto al grupo EP con DM (Genotipo CC: 64%, Genotipo TT: 9 %).
- b) En el grupo EP con DM hubo mayor frecuencia de heterocigotos (27 %) que en el grupo EP sin DM (2 %)

Esta tendencia sugiere que los genotipos que tienen al menos un alelo C (genotipo CC y CT) pueden actuar como factor de riesgo en la población femenina para desarrollar depresión mayor en EP, mientras que el genotipo TT puede actuar como factor protección. Sin embargo, las diferencias no son estadísticamente significativas, por lo que dichas aseveraciones no son concluyentes.

7.2.3.2 Masculino

En este apartado se evaluó la relación que existe entre el polimorfismo rs6313 respecto a la depresión mayor en la EP en la población masculina. En la muestra poblacional se obtuvieron 19 hombres en el grupo EP sin DM y 15 en el grupo EP con DM.

En el *Cuadro 9* se aprecian las frecuencias alélicas y genotípicas de la población masculina, el cálculo para el equilibrio de Hardy-Weinberg y los modelos de herencia con las razones de momios, significancias y valores de los criterios de información Bayesiano y de Akaike.

Cuadro 9. Frecuencias alélicas y genotípicas con modelos de herencia del rs6313 en el género MASCULINOS.

Frecuencia alélica n (%)	EP sin DM (N= 19)	EP con DM (N= 15)	RM (IC al 95%)	Sig (p)	AIC	BIC
C	33 (87 %)	21 (70 %)	0.3 (0.1-1.2)	0.09		
T	5 (13 %)	9 (30 %)	2.8 (0.8-9.6)			
Frecuencia genotípica n (%)						
CC	15 (79 %)	6 (40 %)	0.2 (0.04-0.8) [≡]	0.02 [≡]	45.2 [≡]	48.2 [≡]
CT	3 (16 %)	9 (60 %)	8.0 (1.6-40.0)[≠]	0.007[≠]	43.3[≠]	46.3[≠]
TT	1 (5 %)	0 (0 %)	na (0.0-na) [≈]	0.3 [≈]	49.5 [≈]	52.5 [≈]
EQ-HW	0.3	0.2				

Abreviaciones: EP sin DM: Enfermedad de Parkinson sin depresión mayor; EP con DM: Enfermedad de Parkinson con depresión mayor; RM: Razón de momios; IC del 95%: Intervalo de confianza del 95%; Sig: Significancia; p: Nivel de significancia; AIC: Criterio de información de Akaike; BIC: Criterio de información Bayesiano; n: Número de individuos; %: Porcentaje; N: Tamaño de muestra; EQ-HW: Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Las diferencia de frecuencias alélicas y genotípicas fue evaluada por la prueba de χ^2 . A través de las pruebas AIC y BIC se seleccionó el modelo de herencia que mejor justifica el comportamiento del polimorfismo.

≡ Valores obtenidos de la comparación realizada entre CC vs CT+TT. ≠ Valores obtenidos de la comparación realizada entre CT vs CC+TT. ≈ Valores obtenidos de la comparación realizada entre TT vs CC+CT.

* No se pudo calcular el RM ni el IC porque se tiene valores nulos.

En el equilibrio de Hardy-Weinberg, el grupo EP sin DM tuvo un valor de χ^2 de 0.3, mientras que el grupo EP con DM tuvo un valor de 0.2. Ambos grupos se

encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg porque tienen valores de χ^2 menores a la χ^2 tabulada (3.84).

En este análisis no se obtuvo diferencia estadísticamente significativa en las frecuencias alélicas, sin embargo, si existió en las frecuencias genotípicas bajo el modelo CT vs CC+TT.

En la distribución de las frecuencias alélicas se obtuvieron los siguientes resultados:

- a) El grupo EP sin DM tuvo una frecuencia de 87 % del alelo C (33 alelos de un total de 38 alelos) y de 13 % del alelo T (5 alelos de un total de 38 alelos).
- b) En el grupo EP con DM se encontró una frecuencia de 70 % del alelo C (21 alelos de un total de 30 alelos) y de 30 % del alelo T (9 alelos de un total de 30 alelos).
- c) En ambos grupos se encontró mayor frecuencia del alelo C.

En la distribución de las frecuencias genotípicas se obtuvo que:

- a) En el grupo EP sin DM el 79 % tiene el genotipo CC (15 hombres), 16 % tiene el genotipo CT (3 hombres) y el 5 % restante tiene el genotipo TT (1 hombre).
- b) En el grupo EP con DM el 40 % tiene el genotipo CC (6 hombres) y el 60 % tiene el genotipo CT (9 hombres). Este grupo no presentó ningún hombre con el genotipo TT.
- c) En el grupo EP con DM se obtuvo más heterocigocidad (60 %) que el grupo EP sin DM (16 %)

El modelo CT vs CC + TT fue elegido debido a que fue el modelo que presentó el AIC (43.3) y el BIC (46.3) de menor valor. La RM bajo este modelo indica que existe un 700 % más de susceptibilidad de padecer depresión mayor asociada a la

EP en población masculina si se tiene el genotipo CT del polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*) que si se tuviera el genotipo CC o TT (RM= 8.0, IC al 95%= 1.6 - 40.0, p= 0.007).

Un aspecto importante de resaltar es que en el grupo EP con DM no se presentó ni un sólo caso de genotipo TT (0 %), lo que sugiere este genotipo TT puede actuar como factor protección al desarrollo de depresión mayor en la EP en población masculina. Sin embargo, esta aseveración no se puede confirmar debido a que el modelo de herencia TT vs CC + CT no resultó estadísticamente significativo.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

8.1 Factores ambientales y genéticos

Las frecuencias alélicas pueden cambiar de una población a otra. Kato y cols. (2009) reportan la diferencia que existe en la población asiática respecto a la del resto del mundo, en este estudio se comparó el efecto que tiene la demografía en la modulación de la serotonina respecto al polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*). Se realizó una comparación entre la población japonesa contra la población italiana. En la población japonesa se pudo observar mayor frecuencia del alelo T, caso contrario, en la población italiana hubo más alelo C, probando que la demografía influye en la frecuencia de este polimorfismo.⁶⁰

Los resultados del estudio de Kato y cols. (2009)⁶⁰ se puede corroborar con el estudio de Cao y cols. (2014) y el proyecto 1000 genomas donde la población asiática presenta mayor cantidad de alelo T a comparación de otras poblaciones demográficas.^{30,45}

El proyecto internacional llamado “El proyecto 1000 genomas* ” es un estudio que reporta las frecuencias alélicas y genotípicas de varios polimorfismos, entre los cuales se encuentra el polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* (*Figura 15*) en la población mundial y por cada continente (excepto Oceanía).⁴⁵

* El Proyecto 1000 Genomas es una colaboración internacional para producir un amplio catálogo público de la variación genética humana, incluyendo SNP's, variantes estructurales y haplotipos.



Figura 15. Frecuencia del polimorfismo rs6313 en distintas poblaciones del mundo. Abreviaciones: ALL: población mundial; AFR: Población Africana; AMR: Población Americana; ASN: Población Asiática; EUR: Población europea; CLM: Población colombiana de Medellín; MXL: Población de ancestría mexicana de Los Ángeles, EUA; PUR: Población de Puerto Rico. (Modificado de Ensembl, 2014).

Para darnos una idea de las frecuencias alélicas en la población mexicana, en este estudio se reporta la frecuencia del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* en la población del continente americano. Este cálculo se basa en estadísticas hechas en Colombia, México y Puerto Rico (*Figura 15*).⁴⁵

El estudio del proyecto 1000 genomas que se realizó en la población mexicana fue basado en mexicanos que radican en Los Ángeles California de los Estados Unidos Americanos (EUA).⁴⁵ Sin embargo, los factores ambientales y sociales pueden influir en la frecuencia de este polimorfismo. Una hipótesis dice que la asociación genética depende de la heredabilidad y de los factores ambientales (como eventos estresantes, edad, y dieta) que influyen en la metilación del ADN, alterando la expresión del gen.^{47,71,72} La metilación del ADN puede generar fallas en el desarrollo de proteínas y causar enfermedades.³⁵

Basado en lo anterior, en este estudio se puso énfasis en que la población seleccionada para el estudio fuera de raíces familiares mestizo-mexicana y que radicara en México. Esto con el fin de proporcionar estimación más cercana de las frecuencias alélicas y genotípicas de este polimorfismo en nuestra población.

En el presente trabajo, se obtuvo una frecuencia alélica en el grupo control de 62 % para el alelo C y 38 % para el alelo T dando un patrón exactamente igual al que se obtuvo en el proyecto 1000 genomas para la población mexicana que radica en los EUA (*Figura 15*).

En cuanto a las frecuencias genotípicas, el proyecto 1000 genomas reportó que en la población mexicana (que radica en Los Ángeles California) existió un 42% de individuos con el genotipo CC, 8 % con el genotipo TT y 50 % con el genotipo CT.⁴⁵ En nuestro estudio se obtuvo la misma cantidad de heterocigotos CT y una diferencia del 5% entre los individuos con genotipo CC y TT (*Figura 16*). Estas frecuencias genotípicas se evaluaron con la prueba de χ^2 y no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las dos poblaciones ($p= 0.5$).

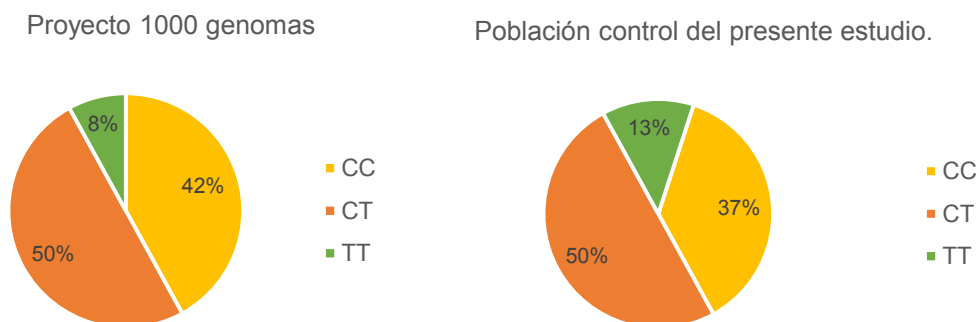


Figura 16. Comparación de la distribución de frecuencias genotípicas en población mexicana entre el proyecto 1000 genomas y el presente estudio (Modificado de NCBI, 2014).

Esta información sugiere que todavía no pasan suficientes generaciones expuestas a estos cambios genéticos y ambientales para que exista una modificación en la frecuencia de este polimorfismo. Todavía se guarda el origen étnico en la muestra de mexicanos que se ocupó en el proyecto 1000 genomas.

En el 2013, la Secretaria de Relaciones Exteriores (SRE) dijo que California era el estado de EUA que tenía la mayor cantidad de población proveniente de México (4.3 millones) y en específico Los Ángeles era la principal ciudad con inmigrantes mexicanos (1.7 millones).⁷³ Se podría suponer que en el proyecto 1000 genomas se utilizaron como sujetos de estudio a inmigrantes provenientes de México, justificando la ancestría mexicana y la similitud de resultados en las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs6313 de nuestro estudio.

En cuanto a la tendencia en las frecuencias genotípicas que se obtuvo en este estudio, Ben-Efraim y cols. (2013) reportaron que la exposición a acontecimientos estresantes en el estilo de vida de una población, resulta en la herencia dominante del genotipo CT y la baja transmisión del genotipo TT del polimorfismo rs6313.⁷⁴ Esto podría justificar la baja frecuencia que se obtuvo en este estudio del genotipo TT y la alta frecuencia del genotipo CT.

8.2 Relación de factores demográficos, clínicos y genéticos con la EP.

Existen estudios en caucásicos donde se relaciona este polimorfismo directamente con la EP, sin embargo, en ninguno se encontró asociación significativa entre el polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* y la EP.^{75,76} En la población mexicana actualmente no existen estudios donde se analice ésta asociación.

De acuerdo a los resultados reportados en el *Cuadro 4* se puede afirmar que: el individuo que posee una copia del alelo C tiene más del doble de susceptibilidad de desarrollar EP que aquellos que poseen el alelo T (RM= 2.6, IC= 1.3 - 5.2, p= 0.005). Esta susceptibilidad aumenta a más del triple, si se tienen los dos alelos C en su genotipo, es decir, se cuenta con el genotipo CC (RM = 3.2, IC= 1.3 - 8.0, p= 0.01). Además, también se reportó que el alelo T funge como factor protector para el desarrollo de depresión mayor en la EP (RM= 0.4; IC del 95%= 0.2 - 0.8; p= 0.005).

Se deben manejar con cautela estas aseveraciones, debido a que el grupo de casos tiene el doble de sujetos de estudio que el grupo control (60 vs 30), obteniendo una proporción 2:1, lo cual disminuye su potencia estadística. Para poder aumentar la potencia estadística y disminuir la probabilidad de error de asociación de la EP con el polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*) se debe tener una proporción 1:1 o 1:2 (el doble de controles que casos). Es ineficiente incluir más de 4 controles por caso pues no se logra un incremento relevante del poder estadístico.^{77,78}

En un estudio a futuro donde el objetivo principal sea evaluar la relación del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* con la EP (sin considerar la depresión mayor), se sugeriría igualar la muestra poblacional de ambos grupos.

Las diferencias demográficas también juegan un papel importante en la respuesta a medicamentos antidepresivos, ansiolíticos y antipsicóticos respecto a este polimorfismo.^{60,79} También se ha reportado la influencia del polimorfismo en las distintas respuestas y efectos adversos de otros fármacos, como son paroxetina, fluoxetina, mirtazapina, citalopram, entre otros.^{60,79,80,81,82} La evidencia sugiere que factores genéticos contribuyen sustancialmente a la variabilidad interindividual en la respuesta a antidepresivos.⁸³

El impacto clínico de las variaciones genéticas que se encuentran en los genes implicados en la dinámica farmacológica de la respuesta antidepresiva, sigue estando bajo investigación y los estudios realizados siguen siendo insuficientes.⁸⁰ Se necesitan más estudios para esclarecer la función de este gen en las diferentes poblaciones e investigar cómo puede modular de forma interactiva la psicopatología de la EP.⁷⁹

8.2.1 Factores de riesgo: Polimorfismo rs6313 + Edad de inicio de la EP.

Actualmente no existen estudios donde se correlacione el polimorfismo rs6313 con la edad de inicio de la EP.

En el presente estudio se realizó una regresión logística binaria donde se evaluó la relación de los factores demográficos, clínicos y genéticos con la EP. Fueron identificados dos factores que modifican la susceptibilidad de padecer EP: el genotipo CC del polimorfismo rs6313 (factor genético) y la edad de inicio de la EP (factor clínico). Se obtuvo que hay 34.2 veces más probabilidad de presentar EP de inicio temprano si se tiene el genotipo CC.

Polesskaya y cols. (2006) reportaron que existe una correlación inversamente proporcional entre la edad y el nivel de expresión del *5HTR2A* en la corteza cerebral de individuos sanos,⁴⁷ es decir, que a mayor edad hay menor expresión del gen para la producción de receptores 5-HT_{2A} en personas sanas. En el caso de los sujetos con EP de inicio temprano (con y sin depresión mayor), esta expresión puede estar alterada debido a la existencia de un deterioro neuronal anticipado. En otro estudio del mismo autor (2002), se informó que la presencia del alelo C en el polimorfismo

rs6313 disminuyó significativamente la cantidad de ARNm y la expresión de proteínas en comparación con el alelo T.⁴⁸ Por ende, el alelo C podría estar ligado a un deterioro neuronal anticipado.

8.3 Relación del polimorfismo rs6313 del gen 5HTR2A con la depresión mayor en la EP

Actualmente no se cuentan con estudios que relacionen el polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*) con la depresión mayor asociada a la EP.

En este estudio no se encontró asociación ni genotípica ni alélica del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* con la depresión mayor en la EP en población mexicana. Al no tener punto de comparación para corroborar los resultados obtenidos, se tomarán en cuenta los estudios que reportan este polimorfismo con enfermedades psiquiátricas.

El presente estudio no es el único que reporta la ausencia de relación entre el polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*) con enfermedades psiquiátricas, por ejemplo:

- Garriok y cols. (2006) no encontraron asociación entre el polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* con la depresión mayor en población europea.⁸⁴
- Middeldore y cols. (2010) no encontraron asociación del SNP con la depresión y la ansiedad en población holandesa.⁸⁵
- En el estudio de Khait y cols. (2005) no se encontró asociación entre la severidad de la depresión, agresividad e impulsividad con el polimorfismo rs6313.⁶¹

Ahora bien, retomando la tendencia reportada en el *Cuadro 7* donde se encontró mayor cantidad de alelo T en el grupo EP con DM (22 %) que en el grupo EP sin DM (17 %), existen dos estudios donde relacionan trastornos psiquiátricos al alelo T:

- González-Castro y cols. (2013) asoció al alelo T con comportamiento suicida en población mexicana.⁵⁴
- Corregiari y cols. (2012) encontró asociación del alelo T con el trastorno obsesivo compulsivo en población brasileña.⁵⁶

Sin embargo, en nuestro estudio, esta tendencia en las frecuencias alélicas se debe a que existe mayor cantidad de heterocigotos CT en el grupo EP con DM (43 %) a comparación del grupo EP sin DM (20 %). Por lo tanto, el factor de riesgo asociado al alelo T se debe a su vez a la heterocigocidad presentada en los sujetos que presentaron depresión mayor asociada a la EP. El modelo seleccionado para describir el comportamiento del polimorfismo fue el CT vs TT+CC. Este modelo nos dice que el factor de riesgo podría deberse a la presencia de los heterocigotos, sin embargo, esta aseveración no se puede confirmar debido a que este modelo no fue estadísticamente significativo.

Un aspecto importante de resaltar en las frecuencias genotípicas es que en el grupo de EP con DM no existió ningún homocigoto TT. Este hecho sugiere que los individuos con EP que tienen el genotipo TT podrían tener un factor de protección en el desarrollo de depresión mayor. Sin embargo, no fue posible confirmarlo porque no existió una diferencia significativa respecto al modelo de herencia TT vs CC + CT. Actualmente no existen estudios donde se relacione al genotipo TT como factor de

protección en el desarrollo de depresión mayor asociada a la EP. Sin embargo en el estudio de Cao y cols. (2014) reportan al genotipo TT como factor de protección respecto al alcoholismo y el abuso de drogas (RM= 0.61, IC al 95%= 0.46 - 0.81, p= 0.0008).³⁰

Ahora bien, retomando el artículo de González-Castro y cols. (2013) se puede resaltar que fue realizado en población mexicana al igual que el presente estudio. Al comparar las frecuencias genotípicas del grupo control reportadas en ambos estudios se observa que se tuvo el mismo comportamiento, es decir, el de mayor frecuencia fue el genotipo CC, después el genotipo CT y por último el genotipo TT. Este aspecto marca una tendencia de la distribución del polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*) en la población mexicana.

Por otro lado, en los grupos de casos existe una discrepancia, pues en el estudio de Gonzales-Castro se tiene mayor frecuencia del genotipo CT, mientras que en nuestro estudio se obtuvo mayor frecuencia del genotipo CC. Esta diferencia puede deberse a que se evaluaron distintos tamaños de muestra con diferentes poblaciones de estudio, esto es: en el estudio de González-Castro se evaluaron 161 sujetos con comportamiento suicida, mientras que en este estudio se tuvieron 30 sujetos con depresión mayor en la EP.⁵⁴

Las estadísticas de los polimorfismos pueden cambiar de una población a otra aunque sea del mismo lugar. La importancia de este estudio radica en que la población que se estudia es la mexicana con depresión mayor asociada a la EP. Actualmente no existe un estudio donde se reporte la frecuencia alélica ni genotípica del polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*) en población mexicana con estas enfermedades neuropsiquiátricas asociadas.

Por este motivo, este sería el primer estudio donde se reporta que existe mayor frecuencia del alelo C respecto al alelo T (C: 78 % vs T: 22 %) en la población mexicana con EP con depresión mayor (*Cuadro 7*).

Comparando las frecuencias alélicas de la población mexicana (reportada en el proyecto 1000 genomas) contra la población mexicana que sufre EP con depresión mayor (reportada en este estudio), existe una diferencia del 16 %. Se realizó la prueba de χ^2 para determinar si esta diferencia es suficiente para determinar que las dos poblaciones difieren entre sí. Se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p= 0.02$) probando que es posible obtener distintas distribuciones alélicas en el mismo lugar demográfico si se trata de poblaciones diferentes. Además también, que el padecimiento de enfermedades puede influenciar las estadísticas de un polimorfismo en una misma población (*Figura 17*).

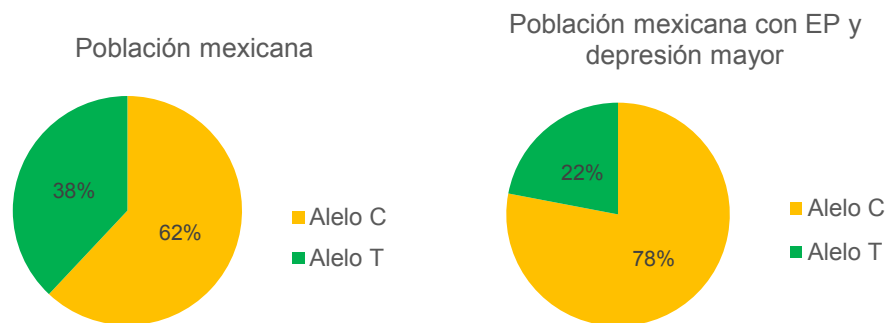


Figura 17. Comparación de la distribución de las frecuencias alélicas entre la población mexicana (control) y la población mexicana con EP y depresión mayor (Modificado de NCBI, 2014).

8.4 Análisis por género

Actualmente no se cuentan con estudios que relacionen por género el polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*) con la depresión mayor asociada a la EP.

En el presente estudio se encontró asociación positiva del polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*) con la depresión mayor asociada a la EP en población masculina.

El género es otro aspecto que puede influir en la distribución de las frecuencias del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A*. Ben-Efraim y cols. (2013) concluyeron que el género juega un papel importante en los patrones de herencia bajo situaciones de estrés.⁷⁴ Estos patrones hereditarios podría influir en el desarrollo de enfermedades neuropsiquiátricas género-dependiente.

Se ha reportado que el género interacciona con el polimorfismo rs6313, por ejemplo, en la respuesta a inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), la cual es género-dependiente.⁵⁹

8.4.1 Población femenina

En nuestro estudio no se encontró asociación positiva del polimorfismo rs6313 con la depresión mayor asociada a la EP en población femenina.

Actualmente no se cuentan con estudios que realicen el análisis de esta asociación en mujeres. Se tomarán en cuenta los estudios que reportan la asociación de este polimorfismo a enfermedades neuropsiquiátricas en población femenina para poder comparar éste estudio con lo reportado en la literatura.

En el estudio de Khait y cols. (2005) no se encontró tampoco asociación del SNP rs6313 con depresión, agresión e impulsividad en la población caucásica femenina.⁶¹ De igual modo, Middeldorp y cols. (2010) tampoco encontraron asociación de este polimorfismo con la depresión y ansiedad en mujeres.⁸⁵

Respecto a las tendencias que se encontraron en el *Cuadro 8* se puede apreciar que se obtuvo mayor frecuencia del alelo C en el grupo EP que presentó depresión mayor. Esto se corrobora en el estudio de Ben-Efraim y cols. (2013) donde las mujeres siguen un patrón dominante de heredar el alelo C.⁷⁴

En cuanto a las frecuencias genotípicas, en este estudio se encontró mayor proporción el genotipo CC en el grupo que padece depresión mayor asociada a EP. Wrzosek y cols. (2011) hicieron su estudio en población polaca y encontraron asociación del genotipo CC del rs6313 del gen *5HTR2A* con intentos suicidas en pacientes femeninas que padecen alcoholismo.⁵³

8.4.2 Población masculina

En este estudio se encontró asociación del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* con la depresión mayor asociada a la EP en población masculina (*Cuadro 9*). Actualmente no se cuentan con estudios que realicen el análisis de esta asociación en hombres.

Esta asociación en hombres puede deberse a que la EP se presenta con mayor frecuencia en éste género: Simunovic y cols. (2010) mencionan que presentan alrededor de 1.5 más veces EP los hombres que las mujeres.⁸⁶ Poleskaya y cols. (2002) discutieron que en hombres los niveles de ARNm y proteína son menores que

en mujeres en los tres genotipos.⁴⁸ Este hecho nos refiere que existe menor expresión del gen *5HTR2A* en el género masculino que en el género femenino.

En el presente estudio se encontró asociación estadísticamente significativa en la distribución genotípica bajo el modelo CT vs CC+TT ($p= 0.007$). Este modelo nos indica que el genotipo CT funge como factor de riesgo respecto al desarrollo de depresión mayor asociada a la EP en población masculina (RM= 8.0, IC al 95%= 1.6 - 40.0).

Confirmando nuestros hallazgos, en el estudio de Luca y cols. (2009) se menciona que en población mixta, aquellos individuos con el genotipo CT tuvieron puntaje significativamente mayor en la escala de depresión de Hamilton que aquellos individuos con el genotipo CC o TT.⁵⁰

En el estudio de Poleskaya y cols. (2006) explica que en el polimorfismo rs6313 existe un sitio de metilación en el alelo C que no se produce en el alelo T. El alelo C puede tener un sitio represor que causa baja expresión del receptor 5-HT_{2A}. La metilación en este lugar podría neutralizar este sitio represor, reduciendo las diferencias en la expresión entre los alelos C y T. El alelo C es metilado bajo determinadas condiciones ambientales y genéticas. Cuando el alelo C no es metilado, su expresión es más baja que la expresión del alelo T. Cuando el alelo C es metilado, su expresión no es diferente a la del alelo T. Por lo tanto, las diferencias funcionales entre los alelos C y T, y en consecuencia la asociación genética con trastornos psiquiátricos, podría depender de factores ambientales y genéticos que influyen en la metilación del ADN.⁴⁷

9. CONCLUSIONES

Se encontró asociación positiva del alelo C y del genotipo CC del polimorfismo rs6313 (gen *5HTR2A*) directamente con la EP en población mexicana. El genotipo CC del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* se asoció a la EP de inicio temprano (antes de los 50 años).

Se encontró asociación positiva del genotipo CT del polimorfismo rs6313 del gen *5HTR2A* con el desarrollo de la depresión mayor asociada a EP sólo en población masculina mexicana.

10. PERSPECTIVAS

Aunque se obtuvieron resultados interesantes en este trabajo, es necesario aumentar la muestra poblacional para confirmar los hallazgos obtenidos.

Este polimorfismo puede ser ocupado para futuros estudios de haplotipos. Es necesario realizar el análisis de otros polimorfismos asociados a la depresión mayor para localizar variaciones genéticas que pueden ser causantes de la depresión mayor asociada a la EP. Si se logra identificar un haplotipo para la depresión mayor asociada a la EP podrá utilizarse como biomarcador genético para detectar oportunamente estas enfermedades neuropsiquiátricas.

También se propone realizar un seguimiento farmacológico a los pacientes con EP que sufren depresión mayor. Esto con el fin de asociar la respuesta del tratamiento farmacológico de antidepresivos con el polimorfismo rs6313 en población mexicana con EP. Esta herramienta podría individualizar los tratamientos farmacológicos en pacientes deprimidos para maximizar la respuesta a antidepresivos basándose en su información genética.

11. REFERENCIAS

- 1.- Jellinger, KA. Interaction between a-Syn and other proteins in neurodegenerative disorders. *ScientificWorldJournal*. 2011; 11: 1893-907. doi: 10.1100/2011/371893.
- 2.- Sharma S, Moon CS, Khogali A, Haidous A, Chabenne A, Ojo C, et al. Biomarkers in Parkinson's disease (recent update). *Neurochem Int*. 2013; 63(3): 201-29. doi: 10.1016/j.neuint.2013.06.005.
- 3.- Willis AW, Schootman M, Kung N, Racette BA. Epidemiology and neuropsychiatric manifestations of Young Onset Parkinson's Disease in the United States. *Parkinsonism. Parkinsonism Relat Disord*. 2013; 19(2): 202-6. doi: 10.1016/j.parkreldis.2012.09.014.
- 4.- Martin HL, Teismann P. Glutathione – a review on its role and significance in Parkinson's disease. *FASEB J*. 2009; 23(10): 3263-72. doi: 10.1096/fj.08-125443. *FASEB J*. 2009; 23: 3263–72.
- 5.- Micheli FE. Enfermedad de Parkinson y trastornos relacionados. 2da edición. Buenos Aires: Médica Panamericana. 2006. Pág: 379.
- 6.- Weintraub D, Moberg PJ, Duda JE, Katz IR, Stern MB. Effect of psychiatric and other nonmotor symptoms on disability in Parkinson's disease. *J Am Geriatr Soc*. 2004; 52(5): 784-8.
- 7.- Baquero M, García-Ramos R, Olivera FJ, Porta-Etessam J, Quemada JI, Sánchez M. Depresión en pacientes con enfermedades neurológicas. Documento de Consenso SEP-SEN. Barcelona: Grupo Saned. 2012. Pág: 25-34.
- 8.- Chapman MA. Interactions between cell adhesion and the synaptic vesicle cycle in Parkinson's disease. *Med Hypotheses*. 2014; 83(2): 203-7. doi: 10.1016/j.mehy.2014.04.029.
- 9.- Olanow CW, Stocchi F, Lang A. Parkinson's Disease Non-motor and Non-Dopaminergic Features. Inglaterra: Wiley-Blackwell. 2011. Pág: 1-5.
- 10.- Edwards YJ, Beecham GW, Scott WK, Khuri S, Bademci G, Tekin D, et al. Identifying consensus disease pathways in Parkinson's disease using an integrative systems biology approach. *PLoS One*. 2011; 6(2): e16917. doi: 10.1371/journal.pone.0016917.
- 11.- Secretaría de Salud. Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento del Trastorno Depresivo. México: CENETEC. 2009. Pág: 1-5.

12.- Mendoza N. Farmacología médica. México: Médica Panamericana. 2008. Pág: 346-347.

13.- Tan SK, Hartung H, Sharp T, Temel Y. Serotonin-dependent depression in Parkinson's disease: A role for the subthalamic nucleus?. *Neuropharmacology*. 2011; 61(3): 387-99. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.01.006.

14.- Pichot P, López-Ibor JJ, Valdés M. DSM-IV Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. 4ta edición. Barcelona: Masson. 1995. Pág: 323-358.

15.- Vriend C, Pattij T, van der Werf YD, Voorn P, Booij J, Rutten S, et al. Depression and impulse control disorders in Parkinson's disease: Two sides of the same coin?. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014; 38: 60-71. doi: 10.1016/j.neubiorev.2013.11.001.

16.- Ayuntamiento de Madrid. Programa preventivo para mayores. Madrid: Díaz de Santos. 2003. Pág: 54.

17.- Sagna A, Gallo JJ, Pontone GM. Systematic review of factors associated with depression and anxiety disorders among older adults with Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014; 20(7): 708-15. doi: 10.1016/j.parkreldis.2014.03.020.

18.- Silverthorn DU, Ober WC, Garrison CW, Silverthorn AC, Johnson BR. Fisiología humana: un enfoque integrado. 4ta edición. Buenos Aires: Médica Panamericana. 2009. Pág: 312.

19.- Escalante J. La serotonina. High Lab Perú. [revista en Internet] 2015 [fecha de creación: 3 de enero del 2015, fecha de consulta: 5 de abril del 2015]; 2 (1): [7]. Dirección electrónica: <http://www.highlabperu.net/?p=58>.

20.- Di Matteo V, Pierucci M, Esposito E, Crescimanno G, Benigno A, Di Giovanni G. Serotonin modulation of the basal ganglia circuitry: therapeutic implication for Parkinson's disease and other motor disorders. *Prog Brain Res*. 2008; 172: 423-63. doi: 10.1016/S0079-6123(08)00921-7.

21.- Di Giovanni G, Di Matteo V, Pierucci M, Esposito E. Serotonin-dopamine interaction: electrophysiological evidence. *Prog Brain Res*. 2008; 172: 45-71. doi: 10.1016/S0079-6123(08)00903-5.

22.- Arrazola FJ, Lezaun JJ, Manchola EA, Méndez AU. La valoración de las personas mayores: evaluar para conocer, conocer para intervenir. Madrid: Cáritas Española. 2001. Pág: 36 -41.

23.- La gaceta de AMI [sede Web]. México: Anestesiólogos Mexicanos en Internet. 2013 [fecha de creación: 29 de junio del 2013, fecha de consulta: 01 de enero del 2015]. Estimulación cerebral profunda [4]. Dirección electrónica: <http://boletindeanestesiologia.com/2013/06/29/estimulacion-cerebral-profunda/>.

24.- Robertson D, Biaggioni I, Burnstock G, Low PA, Paton JFR. Primer on the Autonomic Nervous System. 3ra edición. San Diego CA: Academic Press. 2012. Pág: 83-86.

25.- Lennarz WJ, Lane MD, Gresch P, Sanders-Bush E. Encyclopedia of Biological Chemistry: Serotonin Receptor Signaling. 2da edición. Volumen 4. San Diego CA: Academic Press. 2013. Pág: 33-37.

26.- Tovar JA. Mecanismos receptoriales [monografía en Internet]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana [fecha de consulta: 05 de abril del 2015]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/neurobioquimica/receptores.htm>

27.- Boron WF, Boulpaep EL. Medical Physiology: a cellular and molecular approach. A student consult title, online and print. 2da edición. Philadelphia: Saunders Elsevier. 2012. Pág: S/N Chapter 3: Signal Transduction.

28.- Ishier R, Bhattacharya A, Panicker MM. Chapter 6: Serotonin 2A (5-HT_{2A}) Receptor Function: Ligand-Dependent Mechanisms and Pathways [monografía en internet]. Boca Raton FL: CRC Press [fecha de consulta: 05 de abril del 2015]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1853/>

29.- Petit AC, Quesseveur G, Gressier F, Colle R, David DJ, Gardier AM, et al. Converging translational evidence for the involvement of the serotonin 2A receptor gene in major depressive disorder. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2014; 54: 76-82. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.04.013.

30.- Cao J, Liu X, Han S, Zhang CK, Liu Z, Li D. Association of the HTR2A gene with alcohol and heroin abuse. Hum Genet. 2014; 133(3): 357-65. doi: 10.1007/s00439-013-1388-y.

31.- Schlossmacher MG, Mollenhauer B. Biomarker research in Parkinson's disease: objective measures needed for patient stratification in future cause-directed trials. Biomark Med. 2010; 4(5): 647-50. doi: 10.2217/bmm.10.93.

32.- Legorreta M, Soto I, Tusié MT, Moreno L, Hernández F, Machuca C, et al. Manual de prácticas para el laboratorio de genética parte II. México: PAPIME-UNAM. 2009. Pág: 51-78.

33.- Flores-Alfaro E, Burguete-García AI, Salazar-Martínez E. Diseños de investigación en epidemiología genética. Rev Panam Salud Publica. 2012; 31(1): 88–94.

34.- Watson JD, Baker TA, Bell SP, Gann A, Levine M, Losick R. Biología molecular del gen. 5ta edición. Madrid: Médica Panamericana. 2008. Pág: 107-112.

35.- Passarge E. Genética. Texto y atlas. 3ra edición. Madrid: Editorial Médica Panamericana. 2010. Pág: 46.

36.- Solari AJ. Genética humana: fundamentos y aplicaciones en medicina. 3ra edición. Buenos Aires: Médica Panamericana. 2007. Pág: 98-99.

37.- Wojdacz TK, Dobrovic A. Methylation-sensitive high resolution melting (MS-HRM): a new approach for sensitive and high-throughput assessment of methylation. Nucleic Acids Res. 2007; 35(6): e41.

38.- Zavala JE. Manual de técnicas básicas de biología molecular. Mérida: Universidad Autónoma de Yucatán. 2005. Pág: 135-140.

39.- Gama MA. Biología, biogénesis y microorganismos. 2da edición. México: Pearson Prentice Hall. 2004. Pág: 36-38.

40.- Oliva R, Ballesta F, Oriola J, Clària J. Genética médica. 3ra edición. Barcelona: Publicaciones i ediciones de la Universidad de Barcelona. 2004. Pág: 37-43.

41.- Checa M. Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 2007; 20 (3): 213-21.

42.- Iniesta R, Guino E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. Gac Sanit. 2005; 19 (4): 333-41.

43.- Losos JB, Raven PH. Biology: Student Edition. 8va edición ilustrada. India: McGraw-Hill Higher Education. 2005. Pág: 38-40.

44.- National Center for Biotechnology Information. Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs6313 [monografía en Internet]. Rockville Pike MD: U.S. National Library of Medicine [Fecha de consulta: 20 de mayo de 2014] Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=6313

45.- Ensembl. Rs6313 SNP [monografía en Internet]. Inglaterra: The sanger institute [Fecha de consulta: 3 de junio de 2014] Disponible en: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Mappings?db=core;r=13:47469440-47470440;v=rs6313;vdb=variation;vf=31744.

46.- Paredes B, Saiz P, García-Portilla M, Morales B, Pajin M, Fernández I, et al. Asociación entre el polimorfismo A-1438G del gen del receptor de serotonina 2A (5-HT2A) e impulsividad del comportamiento suicida. *Emergencias*. 2008; 20(2): 93-100.

47.- Poleskaya OO, Aston C, Sokolov BP. Allele C-Specific Methylation of the 5-HT2A Receptor Gene: Evidence for Correlation With Its Expression and Expression of DNA Methylase DNMT1. *J Neurosci Res*. 2006; 83(3): 362-73.

48.- Poleskaya OO, Sokolov BP. Differential Expression of the “C” and “T” Alleles of the 5-HT2A Receptor Gene in the Temporal Cortex of Normal Individuals and Schizophrenics. *J Neurosci Res*. 2002; 67(6): 812-22.

49.- Sujitha SP, Nair A, Banerjee M, Lakshmanan S, Harshavaradhan S, Gunasekaran S, et al. 5-Hydroxytryptamine (serotonin) 2A receptor gene polymorphism is associated with schizophrenia. *Indian J Med Res*. 2014; 140(6): 736-43.

50.- De Luca V, Viggiano E, Dhoot R, Kennedy JL, Wong AH. Methylation and QTDT analysis of the 5-HT2A receptor 102C allele: Analysis of suicidality in major psychosis. *J Psychiatr Res*. 2009; 43(5): 532-7. doi: 10.1016/j.jpsychires.2008.07.007.

51.- Du L, Bakish D, Lapierre YD, Ravindran AV, Hrdina PD. Association of polymorphism of serotonin 2A receptor gene with suicidal ideation in major depressive disorder. *Am J Med Genet*. 2000; 96(1): 56-60.

52.- Wilkosz PA, Kodavali C, Weamer EA, Miyahara S, Lopez OL, Nimgaonkar VL, et al. Prediction of psychosis onset in Alzheimer disease: The role of depression symptom severity and the HTR2A T102C polymorphism. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2007; 144B(8): 1054-62.

53.- Wrzosek M, Łukaszewicz J, Wrzosek M, Serafin P, Jakubczyk A, Klimkiewicz A, et al. Association of polymorphisms in HTR2A, HTR1A and TPH2 genes with suicide attempts in alcohol dependence: a preliminary report. *Psychiatry Res*. 2011; 190(1): 149-51. doi: 10.1016/j.psychres.2011.04.027.

54.- González-Castro TB, Tovilla-Zárate C, Juárez-Rojop I, Pool García S, Velázquez-Sánchez MP, Genis A, et al. Association of the 5HT2A gene with suicidal behavior: case-control study and updated meta-analysis. *BMC Psychiatry*. 2013; 13: 25. doi: 10.1186/1471-244X-13-25.

55.- Lin Y, Yang H, Lai T, Fann J, Sun H. Receptor mediated effect of serotonergic transmission in patients with bipolar affective disorder. *J Med Genet*. 2003; 40(10): 781–86. doi: 10.1136/jmg.40.10.781

56.- Corregiari FM, Bernik M, Cordeiro Q, Vallada H. Endophenotypes and serotonergic polymorphisms associated with treatment response in obsessive-compulsive disorder. *Clinics*. 2012; 67(4): 335-40. doi:10.6061/clinics/2012(04)06.

57.- Holliday KL, Macfarlane GJ, Nicholl BI, Creed F, Thomson W, McBeth J. Genetic variation in neuroendocrine genes associates with somatic symptoms in the general population: Results from the EPIFUND study. *J Psychosom Res*. 2010; 68(5): 469-74. doi: 10.1016/j.jpsychores.2010.01.024.

58.- Jakubczyk A, Klimkiewicz A, Kopera M, Krasowska A, Wrzosek M, Matsumoto H, et al. The CC genotype in the T102C HTR2A polymorphism predicts relapse in individuals after alcohol treatment. *J Psychiatr Res*. 2013; 47(4): 527-33. doi: 10.1016/j.jpsychires.2012.12.004.

59.- Stoltenberg SF, Christ CC, Highland KB. Serotonin system gene polymorphisms are associated with impulsivity in a context dependent manner. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012; 39(1): 182-91. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.06.012.

60.- Kato M, Zanardi R, Rossini D, De Ronchi D, Okugawa G, Kinoshita T, et al. 5-HT2A gene variants influence specific and different aspects of antidepressant response in Japanese and Italian mood disorder patients. *Psychiatry Res*. 2009; 167(1-2): 97-105. doi: 10.1016/j.psychres.2007.12.012.

61.- Khait VD, Huang YY, Zalsman G, Oquendo MA, Brent DA, Harkavy-Friedman JM, et al. Association of serotonin 5-HT2A receptor binding and the T102C polymorphism in depressed and healthy Caucasian subjects. *Neuropsychopharmacology*. 2005; 30(1): 166-72.

62.- Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernández-López J, Uribe-Figueroa L, Contreras A, et al. Análisis de la diversidad genómica en las poblaciones mestizas mexicanas para desarrollar medicina genómica en México. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009; 106 (21): 8611-16. doi: 10.1073/pnas.0903045106.

63.- Asociación Médica Mundial [sede Web]. Corea: Asociación Médica Mundial. 2008 [fecha de revisión: 5 de mayo de 2015; fecha de acceso: 30 de mayo del 2015]. Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos [11]. Dirección electrónica: <http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/>

64.- Records of the General Conference, 29va sesión: 21 de octubre al 12 de noviembre de 1977. Volumen 1. Paris: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. 1977. Pág: 42-47.

65.- Records of the General Conference, 32va sesión: 29 de septiembre al 17 de octubre del 2003. Volumen 1. Paris: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. 2003. Pág: 39-46.

66.- Maniatis F, Fritsh EF, Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual. Volumen 2. New York: Cold Spring Harbor Laboratory. 1983. Pág: 458-460.

67.- Basic Local Aligment Search Tool [monografía en Internet]. Rockville Pike MD: National Center for Biotechnology Information [Fecha de consulta: 19 de abril de 2014]. Disponible en: http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome

68.- Sánchez M. Farmacoepidemiología (Taller) Orientación: Farmacia Clínica. México: UNAM. 2013. Pág: 1-18.

69.- Moreno-Altamirano A, López-Moreno S, Corcho-Berdugo A. Principales medidas en epidemiología. Salud Publica Mex. 2000; 42(2): 337-446.

70.- García MC, Castellana N, Rapelli C, Koegel L, Catalano M. Criterios de información y predictivos para la selección de un modelo lineal mixto. SaberEs. 2014; 6: 61-76.

71.- Opmeer EM, Kortekaas R, Aleman A. Depression and the role of genes involved in dopamine metabolism and signaling. Prog Neurobiol. 2010; 92(2): 112-33. doi: 10.1016/j.pneurobio.2010.06.003.

72.- Smith RM, Papp AC, Webb A, Ruble CL, Munsie LM, Nisenbaum LK, et al. Multiple Regulatory Variants Modulate Expression of 5-Hydroxytryptamine 2A Receptors in Human Cortex. Biol Psychiatry. 2013; 73(6): 546-54. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.09.028.

73.- Secretaria de Relaciones Exteriores. Los mexicanos en Estados Unidos: La importancia de sus contribuciones [monografía en Internet]. México: Secretaria de Relaciones Exteriores [fecha de consulta: 10 de mayo del 2015]. Disponible en: <http://consulmex.sre.gob.mx/mcallen/images/stories/2013/contribuciones.pdf>

74.- Ben-Efraim YJ, Wasserman D, Wasserman J, Sokolowski M. Family-based study of HTR2A in suicide attempts: observed gene, gene x environment and parent-of-origin associations. Mol Psychiatry. 2013; 18(7): 758-66. doi: 10.1038/mp.2012.86.

75.- Güzey C, Allard P, Brännström T, Spigset O. Radioligand binding to brain dopamine and serotonin receptors and transporters in Parkinson's disease: relation to gene polymorphisms. Int J Neurosci. 2012; 122(3): 124-32. doi: 10.3109/00207454.2011.631716.

76.- Kiferle L, Ceravolo R, Petrozzi L, Rossi C, Frosini D, Rocchi A, et al. Visual hallucinations in Parkinson's disease are not influenced by polymorphisms of serotonin 5-HT_{2A} receptor and transporter genes. *Neurosci Lett.* 2007; 422(3): 228-31.

77.- Evans DM, Purcell S. Power calculations in genetic studies. *Cold Spring Harb Protoc.* 2012; 2012(6): 664-74. doi: 10.1101/pdb.top069559.

78.- Pértegas S, Pita S. Cálculo del poder estadístico de un estudio. *Cad Aten Primaria.* 2003; 10: 59-63.

79.- Lin JY, Jiang MY, Kan ZM, Chu Y. Influence of 5-HTR_{2A} genetic polymorphisms on the efficacy of antidepressants in the treatment of major depressive disorder: A meta-analysis. *J Affect Disord.* 2014; 168: 430-8. doi: 10.1016/j.jad.2014.06.012.

80.- Porcelli S, Drago A, Fabbri C, Gibiino S, Calati R, Serretti A. Pharmacogenetics of antidepressant response. *J Psychiatry Neurosci.* 2011; 36(2): 87-113.

81.- O'Leary OF, Cryan JF. The behavioral Genetics of Serotonin: Relevance to Anxiety and Depression. *Handb Behav Neurosci.* 2010; 21: 749-89. doi:10.1016/S1569-7339(10)70109-0

82.- Kishi T, Kitajima T, Tsunoka T, Ikeda M, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, et al. Genetic association analysis of serotonin 2A receptor gene (HTR_{2A}) with bipolar disorder and major depressive disorder in the Japanese population. *Neurosci Res.* 2009; 64(2): 231-4. doi: 10.1016/j.neures.2009.03.003.

83.- Niitsu T, Fabbri C, Bentini F, Serretti A. Pharmacogenetic in major depression: A comprehensive meta-analysis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2013; 45: 183-94. doi: 10.1016/j.pnpbp.2013.05.011.

84.-Garriok HA, Delgado P, Kling MA, Carpenter LL, Burke M, Burke MJ, et al. Number of risk genotypes is a risk factor for major depressive disorders: a case control study. *Behav Brain Funct.* 2006; 2: 24. doi: 10.1186/1744-9081-2-24

85.- Middeldorp CM, Slof-Op't Landt MC, Medland SE, van Beijsterveldt CE, Bartels M, Willemsen G, et. al. Anxiety and depression in children and adults: influence of serotonergic and neurotrophic genes?. *Genes Brain Behav.* 2010; 9(7): 808-16. doi: 10.1111/j.1601-183X.2010.00619.x.

86.- Simunovic F, Yi M, Wang Y, Stephens R, Sonntag KC. Evidence for Gender-Specific Transcriptional Profiles of Nigral Dopamine Neurons in Parkinson Disease. *PLoS One.* 2010; 5(1): e8856. doi: 10.1371/journal.pone.0008856.