



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
INSTITUTO NACIONAL DE PSIQUIATRÍA RAMÓN DE LA FUENTE MUÑIZ

**Diferencia en las proporciones linfocitarias entre pacientes  
con esquizofrenia resistentes y vírgenes/lavados al  
tratamiento**

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

NANCY ESTHELA GARCÍA GÓMEZ

Tutor Teórico

Tutor Metodológico

Dr. Raúl Iván Escamilla Orozco

Dr. Lenin Pavón Romero

CIUDAD DE MÉXICO MARZO 2017



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.

## CONTENIDO E ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ANTECEDENTES .....	2
Definición del término psicosis .....	2
Definición y diagnóstico de la esquizofrenia .....	3
Evaluación clinimétrica de los síntomas psicóticos .....	5
Generalidades sobre las teorías de la esquizofrenia .....	6
Antecedentes a las teorías inmunológicas de la esquizofrenia .....	11
Generalidades, función y caracterización del sistema inmunológico ....	13
Neuroinflamación .....	17
Teorías inmunológicas de la esquizofrenia .....	20
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	28
JUSTIFICACIÓN .....	30
OBJETIVOS .....	32
Objetivo principal .....	32
Objetivos secundarios .....	32
HIPÓTESIS .....	34
Hipótesis alterna .....	34
Hipótesis nula .....	34
METODOLOGÍA .....	35
Diseño del estudio .....	35
Población y muestra .....	35
Criterios de selección .....	35
Definición de variables .....	39
Escala e instrumentos de medición .....	42
Procedimientos .....	44
Flujograma .....	46
Análisis estadístico .....	46
Cronograma de actividades .....	48
ASPECTOS ÉTICOS, FINANCIEROS Y DE BIOSEGURIDAD .....	49
RESULTADOS .....	50
DISCUSIÓN .....	69
CONCLUSIONES .....	81
BIBLIOGRAFÍA .....	82
ANEXOS .....	89

## **RESUMEN**

La esquizofrenia representa el arquetipo de las enfermedades psiquiátricas, sin embargo, aún no se conocen los mecanismos fisiopatológicos específicos involucrados en su génesis debido a la complejidad de la patología. La teoría inmunológica ha cobrado gran importancia y en este momento es una de las principales líneas de investigación a nivel mundial. **Objetivo principal:** Determinar si existe diferencia en las proporciones de células cooperadores (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>), células citotóxicas (CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>), células B (CD19<sup>+</sup>) y células NK (CD3<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>) entre pacientes con esquizofrenia resistentes y vírgenes/lavados al tratamiento por medio de citometría de flujo. **Resultados:** No se encontró diferencia significativa en ninguna de las proporciones celulares estudiadas entre sujetos vírgenes/lavados y resistentes al tratamiento. Sin embargo, en los sujetos vírgenes/lavados se encontraron cinco relaciones inversas y una relación lineal significativas, pero de baja confiabilidad por el tamaño de muestra. **Discusión:** Es necesario incrementar el número de muestra para un mejor entendimiento de las variables motivo de estudio, para realizar estadística inferencial con resultados confiables y para evaluar si continúa la misma tendencia en las correlaciones encontradas.

## **ANTECEDENTES**

### **Definición del término psicosis**

El concepto de psicosis ha evolucionado considerablemente a lo largo de la historia desde que el psiquiatra alemán Karl Friedrich Canstatt introdujo el término en 1841 como sinónimo de *neurosis psíquica*, enfatizando que se trataba de una manifestación psíquica de una enfermedad cerebral. Möbius en 1875 hizo una diferenciación e introdujo los términos de psicosis endógenas y psicosis exógenas; incluyendo a la histeria, melancolía, manía y paranoia en la psicosis endógena, y a aquellos trastornos que tenían como base una influencia externa de origen somático o psicológico los incluyó en las psicosis exógenas. Esta terminología se utilizó hasta 1918, cuando Bonhoeffer lo denominó como un síndrome psíquico, compuesto por diversos síntomas que no son específicos de alguna patología. Finalmente, en 1924, con la ecuación de Bumke, el término recibe la denominación que es válida hasta nuestros días (Burgy, 2008). Cabe resaltar que en conjunto los síntomas psicóticos también son conocidos en el contexto de la esquizofrenia con el término de "síntomas positivos", pues tradicionalmente se definieron como un aparente exceso o distorsión de las funciones normales, tales como la distorsión del pensamiento inferencial (ideas delirantes), en la

percepción (alucinaciones), en el lenguaje y la comunicación (lenguaje desorganizado), y la organización del comportamiento (conducta desorganizada o catatonia) (American Psychiatric Association, 2000). En este estudio, se utilizan indistintamente los términos síndrome psicótico, psicosis y síntomas positivos.

Si bien la esquizofrenia es la enfermedad prototipo del síndrome psicótico, no es un síndrome específico de esta enfermedad y puede presentarse en diferentes contextos clínicos acompañando a otras patologías psiquiátricas como el delirium, las demencias o la depresión (American Psychiatric Association, 2000), y a otras enfermedades orgánicas, principalmente neuroinfecciones (Manterola-Cornejo et al., 2005).

### **Definición y diagnóstico de la esquizofrenia**

La palabra esquizofrenia proviene de las raíces griegas *schizo* y *phrenos* que significan *mente dividida* y de acuerdo a la clasificación internacional de enfermedades en su décima revisión (CIE-10) se define como un trastorno caracterizado por distorsiones fundamentales y típicas de la emoción, el pensamiento y las emociones, estas últimas en forma de embotamiento o falta de adecuación de las mismas.

De acuerdo al DSM-5, el diagnóstico se realiza cuando se cumplen los criterios A y B durante un mes, que los signos continuos de la alteración persistan por al menos seis meses (criterio C) y que no se expliquen por un trastorno esquizoafectivo o del estado de ánimo, por otra causa médica, un trastorno generalizado del neurodesarrollo o consumo de sustancias (criterios D, E y F). Los síntomas característicos que conforman el criterio A son las ideas delirantes, alucinaciones, lenguaje desorganizado, comportamiento catatónico o gravemente desorganizado y los síntomas negativos, por ejemplo, aplanamiento afectivo y abulia. El criterio B es la disfunción social y laboral, para que se considere positivo se requiere de un inicio de la alteración durante una parte significativa del tiempo en una o más áreas importantes para la actividad y un fracaso en cuanto a alcanzar un nivel esperable de rendimiento.

De acuerdo al DSM-5 para que se cumplan los criterios diagnósticos de esquizofrenia, se requieren de forma obligada dos síntomas del criterio A, además, se requiere que al menos uno de los síntomas debe ser ideas delirantes, alucinaciones o habla desorganizada. También se incluye una aproximación dimensional para puntuar la gravedad de los síntomas y describir su heterogeneidad en la Sección III. Los especificadores que se agregan son en relación con la

presentación del episodio y su curso cronológico y sobre la presencia de síntomas catatónicos. (World Health Organization, 1992) (American Psychiatric Association, 2000) (American Psychiatric Association, 2013).

### **Evaluación clinimétrica de los síntomas psicóticos**

Con la intención de hacer más objetiva la evaluación de los síntomas psicóticos, existen diversas escalas de evaluación psicopatológica que son utilizadas en diversos contextos clínicos (Lindenmayer, Harvey, Khan, & Kirkpatrick, 2007) (Andreasen, 1984).

Kay y colaboradores, desarrollaron la Escala de Síndromes Positivos y Negativos (PANSS, por sus siglas en inglés), que es la escala más utilizada y mejor aceptada para la evaluación de la esquizofrenia. Originalmente consiste en tres sub escalas que valoran siete síntomas positivos, siete negativos y dieciséis para psicopatología general. Esta escala consta de 30 reactivos, los cuales se califican del cero al siete de forma ordinal, el puntaje cero se utiliza cuando la definición del síntoma no es aplicable, a partir del uno se califica la gravedad en su forma más leve y el siete representa las formas extremas de presentación, se evalúa de acuerdo a la frecuencia

y la conducta que generen los síntomas. El tiempo estimado de aplicación es de 30 a 45 minutos y debe ser realizado por personal capacitado. Esta escala ha mostrado fiables propiedades psicométricas, con un índice de correlación de Pearson de 0.81 a 0.93 en la valoración de síntomas en la esquizofrenia. (Lindenmayer et al., 2007).

### **Generalidades sobre las teorías de la esquizofrenia**

La esquizofrenia es un trastorno psiquiátrico grave con una etiología compleja y heterogénea y a pesar de las décadas y de las investigaciones que se han conducido tenemos poco conocimiento acerca de las causas de la enfermedad y porqué determinado grupo de sujetos la padecen.

Las primeras teorías sobre la esquizofrenia involucran a los sistemas de neurotransmisión y se comenzaron a postular posterior al advenimiento de la psicofarmacología, en este sentido, las teorías más importantes al momento son: la teoría dopaminérgica, la teoría serotoninérgica y la teoría glutamatérgica.

La teoría dopaminérgica surge con el descubrimiento del bloqueo del receptor D2 inducido por neurolepticos en los años 60, por lo que la actividad dopaminérgica resulta en un modelo

importante implicado en la patogénesis y por lo tanto ha sido el más estudiado (Sedvall, 1990) (Muller, 2008) (Moncrieff, 2009). Además, es bien conocido que el uso crónico de drogas psicoestimulantes pueden generar síntomas psicóticos en algunos pacientes sin historia psiquiátrica previa (Moncrieff, 2009). Sin embargo, han continuado las investigaciones en busca de otros factores que intervengan en la fisiopatología debido a que aproximadamente el 20% de los pacientes no responden al tratamiento con antipsicóticos y se denominan resistentes al tratamiento. (Muller, 2008). De acuerdo a la APA, la resistencia al tratamiento se define como poca o ninguna respuesta sintomática a múltiples ensayos antipsicóticos (al menos dos), con duración adecuada (al menos 6 semanas) y a dosis adecuadas (rango terapéutico). El tratamiento de elección en caso de resistencia a tratamiento es la clozapina, una dibenzodiazepina también con efecto dopaminérgico pero sobre el receptor D4 (Muller, 2008) (Moncrieff, 2009). Aproximadamente el 60% de los sujetos resistentes responden con clozapina, por lo que se considera que tiene un efecto superior al de otros antipsicóticos, sin embargo, no es el tratamiento de primera elección por sus graves efectos adversos que pueden ser potencialmente mortales. Se sabe que entre el 0.5 al 1% de los sujetos tratados con clozapina desarrollan agranulocitosis, principalmente en los primeros seis meses de

tratamiento y que este efecto es independiente de la dosis. Otro efecto adverso frecuente es la hipertermia benigna en el 50% de los casos, y con menor frecuencia se reportan miocarditis, pericarditis o serositis. Por lo que se ha hipotetizado que la clozapina podría tener un efecto único que involucra vías inmunológicas (Pandey, Ren, Rizavi, & Zhang, 2015).

La teoría serotoninérgica surgió a partir del conocimiento de la similitud estructural que existe entre la serotonina y las drogas alucinógenas y por la demostración de los efectos de la reserpina sobre el almacenamiento de serotonina en neuronas serotoninérgicas. Sin embargo, no todos los antipsicóticos tienen este efecto, por lo que disminuyeron las evidencias químicas a favor de esta teoría (Sedvall, 1990).

Finalmente, surge la teoría glutamatérgica en los años 90, al identificar que los antagonistas no competitivos del receptor NMDA, como la fenciclidina (PCP) y el MK-801, pueden generar síntomas psicóticos en sujetos sanos y exacerbación de síntomas positivos en pacientes con esquizofrenia (Muller, 2008) (Coyle, 1996) (Javitt, 2010). Se sabe que la disfunción del receptor inducida por drogas psicotomiméticas, es dependiente de la edad, siendo menor en niños y alcanzando su nivel máximo en la adultez (Coyle, 1996). Y, en el ámbito

clínico, se han documentado niveles disminuidos de glutamato en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con esquizofrenia (Muller, 2008) y disminución en la actividad del receptor NMDA en la corteza prefrontal, este último es uno de los hallazgos más consistentes en esta patología. Además, se ha enfatizado el papel de las vías inmunológicas porque se sabe que el funcionamiento de los receptores glutamatérgicos puede ser regulado por medio de citocinas (Adell, Jimenez-Sanchez, Lopez-Gil, & Romon, 2012).

Además de estas teorías, a lo largo de los diferentes estudios se han identificado algunos factores de riesgo bien establecidos para padecer esquizofrenia, lo cual ha podido reorientar la búsqueda hacia otras nuevas hipótesis. Los factores de riesgo prenatales incluyen infecciones maternas prenatales, bajo peso al nacer y edad avanzada paterna. Otros factores de riesgo son las enfermedades autoinmunitarias y alérgicas, variaciones genéticas en la región del complejo principal de histocompatibilidad (HLA) en el cromosoma 6.

También se sabe que la esquizofrenia se relaciona con reducción en la esperanza de vida, mayor proporción de enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes mellitus, hipertensión, tabaquismo y síndrome metabólico

independientemente del tratamiento antipsicótico, lo que sugiere que las anormalidades en este trastorno pueden extenderse y no sólo limitarse a la psicosis y al sistema nervioso central (de Witte et al., 2014). Resulta destacable que el vínculo directo entre la diabetes mellitus y la esquizofrenia fue sugerido en 1879 por Sir Maudsley en la publicación "Diabetes e insania" mucho antes de la era de los antipsicóticos, donde señaló que la diabetes era más frecuente en los pacientes psicóticos y sus familiares (Maudsley, 1879). Una posible explicación para esta observación clínica es un anormal funcionamiento de los sistemas inmunitario, metabólico y/o del sistema nervioso central que resulta en una disfunción en la comunicación celular, señalización hormonal y redes neurales. Por lo que, la inflamación también se ha considerado como un factor causante y/o mediador importante en la esquizofrenia (Fan, Goff, & Henderson, 2007). Se piensa que la excesiva producción de componentes inmunitarios desestabiliza el cerebro de tal manera que otras influencias genéticas y ambientales son capaces de precipitar los signos y síntomas (Smith & Maes, 1995), a través de mecanismos complejos que influyen en la neuroplasticidad y la neurotransmisión (Benros, Mortensen, & Eaton, 2012).

De cualquier forma, el mecanismo por el que la desregulación del sistema inmunitario contribuye en el

desarrollo de los síntomas de la esquizofrenia no está completamente entendido.

### **Antecedentes a las teorías inmunológicas de la esquizofrenia**

Dado un creciente interés en mirar más allá del sistema nervioso central en la génesis de la esquizofrenia, el rol de la inflamación ha cobrado importancia porque se cree que unifica los factores conductuales y físicos presentes en este trastorno (O'Connell, Thakore, & Dev, 2014).

Sorpresivamente, una de las primeras teorías en relación con el sistema inmunológico y la esquizofrenia fue propuesta por Emil Kraepelin que aseguraba que los estados febriles producían enfermedades psiquiátricas por medio de su impacto en la conectividad y el metabolismo, lo que genera un incremento en los metabolitos de degradación que conducen al daño neural. Además, realizó un estudio que incluía a 700 sujetos que dividió en dos grupos en relación con la presentación de la fiebre y el desarrollo de psicopatología y definió como *psicosis febriles* a aquellas que presentaban estos síntomas durante el episodio febril y *psicosis asténicas* cuando se presentaban durante la recuperación. (Jones, Mowry, Pender, & Greer, 2005).

En 1904, Lexis C. Bruce y Alexander Peebles reportaron leucocitosis y eosinofilia en una muestra de sujetos con catatonia que cumplían criterios diagnósticos para lo que hoy conocemos como esquizofrenia. Además, realizaron un modelo animal en conejos a los que se les inyectó extracto de estreptococos obtenidos de sujetos con esquizofrenia y lograron replicar síntomas conductuales de la enfermedad, pero no conductas sugerentes de síntomas psicóticos (Bruce & Peebles, 1904).

En 1930, el neuropatólogo Hermann Lehmann-Facius atribuyó el proceso degenerativo, propuesto por Kraepelin al acuñar el término *demencia praecox*, a un proceso autoinmune sobre algunas estructuras fundamentales del cerebro y, posterior a realizar investigación en cerebros de pacientes con esquizofrenia, determinó que podrían estar involucrados anticuerpos dirigidos contra los lípidos del cerebro pero sus resultados fueron poco confiables por la dificultad para replicarlos (Lehmann-Facius, 1939).

Finalmente, Denicoff y cols., describieron la producción de síntomas neuropsiquiátricos en sujetos sanos posterior a la inyección con IL-2 y reportaron la producción de síntomas positivos y negativos característicos de la fase activa de la

esquizofrenia en la mayor parte de los sujetos (Denicoff et al., 1987).

Con el posterior advenimiento del auge de la inmunología, gracias al desarrollo de técnicas que permiten la evaluación de sus diferentes componentes celulares y humorales, múltiples estudios se han realizado en los que se han documentado alteraciones en diferentes parámetros inmunitarios, principalmente en el perfil de citocinas, variaciones en las poblaciones celulares y estrés oxidativo en sujetos con esquizofrenia.

### **Generalidades, función y caracterización del sistema inmunológico**

La inflamación es la primera reacción de la respuesta inmunitaria y se trata de una respuesta compleja del hospedero ante una lesión tisular o daño físico con la finalidad de restaurar la homeostasis y recuperarse del daño. Dado que los efectos de los procesos inflamatorios pueden ser dañinos para el hospedero, estos deben ser rápidos, específicos y autolimitados. Para un mejor entendimiento de la respuesta inmunitaria, se ha clasificado en dos tipos: la respuesta innata y la adaptativa (Pandey, Ren, Rizavi, & Zhang, 2015).

El papel principal de la respuesta innata es eliminar rápidamente patógenos, de una manera que clásicamente se ha denominado como "no específica", e iniciar una respuesta inmunitaria adaptativa mediante la estimulación de linfocitos T y B antígeno específicos, por lo tanto, la respuesta inmunitaria innata es la primera línea de defensa del organismo. Se compone inicialmente de barreras físicas (como los epitelios) y de factores tanto celulares como humorales. Dentro de los factores celulares de la respuesta inmunitaria innata están los fagocitos (monocitos, mácrófagos, neutrófilos y células dendríticas) cuya función es la producción de NADPH-oxidasa, iones superóxido y óxido nítrico sintasa (NOS); también están los eosinófilos y mastocitos, cuya función es la degradación de diferentes derivados como histamina, leucotrienos y lisofosfolípidos; y los *innate like lymphocytes*: B1, células B de la zona marginal, natural killer (NK) y linfocitos  $\gamma\delta$ . Los factores humorales de la respuesta inmunitaria innata son: la lisozima; las citocinas producidas por los diferentes fagocitos como el Factor de Necrosis Tumoral (TNF- $\alpha$ ), la interleucina-1 (IL-1), la interleucina-12 (IL-12) y el Interferón Gamma (IFN- $\gamma$ ); proteínas de fase aguda como la proteína C reactiva (PCR), fibrinógeno o seruloplasmina; y el complemento. (Lafon, Megret, Lafage, & Prehaud, 2006).

La respuesta inmunitaria adaptativa reconoce y recuerda patógenos para llevar a cabo una respuesta específica más potente contra infecciones repetidas por un determinado antígeno. Al igual que la respuesta inmunitaria innata, también se compone de elementos celulares y humorales. De forma clásica, los elementos celulares de la respuesta adaptativa son los linfocitos T (cooperadores y citotóxicos) y los linfocitos B, cuya principal función es la producción de anticuerpos que reciben el nombre según su cadena pesada. Los linfocitos cooperadores (Th), juegan un papel importante en la mediación de la respuesta inmunitaria adaptativa, se sabe que las células Th naïve maduran en células cooperadoras de tipo 1 (Th1) o células cooperadoras de tipo 2 (Th2) en respuesta a tipos específicos de citocinas. Las células Th1 están involucradas en las respuestas celulares contra bacterias extracelulares y virus, de forma patológica se les ha involucrado en enfermedades autoinmunitarias como la esclerosis múltiple y la artritis reumatoide y su diferenciación depende de la presencia de IL-12 producido por las células dendríticas, lo que permite la activación de macrófagos, linfocitos NK, linfocitos citotóxicos e inducen la diferenciación de los linfocitos B para producir anticuerpos de isotipos opsonizantes (IgG1 e IgG3). Los linfocitos Th1 secretan citocinas definidas como proinflamatorias como el IFN-

$\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2 e IL-8 (Schmitt & Ueno, 2015). En contraste, las células Th2 se encargan de la respuesta humoral contra organismos extracelulares y reacciones alérgicas, es estimulada por la IL-4 y ocurre en respuesta a patógenos extracelulares y en respuesta a alérgenos. Este perfil se define por la producción de citocinas "anti-inflamatorias" como la IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13 y favorece la activación de linfocitos B para la secreción de anticuerpos, mayoritariamente IgG4 e IgE, para promover la degranulación de mastocitos y eosinófilos (Schmitt & Ueno, 2015).

Actualmente, se han identificado otros linfocitos Th que se identifican por la expresión de FoxP3+ (T reguladoras), las Th9 que producen IL-9 y se asocian a las respuestas antitumorales, alergias y enfermedades autoinmunitarias, las Th17 que secretan IL-17, las Th22 que producen IL-22 pero no IL-17 y las células T foliculares auxiliares (Fiuza et al., 2009) (Appay, van Lier, Sallusto, & Roederer, 2008).

De acuerdo a lo descrito, existen células propias de las respuestas inmunitarias innata y adaptativa que desempeñan diversas funciones, por lo que resulta importante su adecuada identificación para su determinación y estudio. Las células inmunitarias se identifican por medio de moléculas proteicas que se conocen como marcadores de superficie. Sin embargo, la

presencia de estos marcadores es muy heterogénea en las diversas poblaciones linfocitarias por lo que se establece la combinación de determinados marcadores para definir las (Dugast & Vanhove, 2009).

Los linfocitos T se identifican por la expresión de CD3<sup>+</sup> en su superficie, además los linfocitos Th se identifican por expresar CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> y los linfocitos Tc son CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (Fiuza et al., 2009) (Appay et al., 2008).

Para distinguir a los linfocitos B, se emplea el marcador CD19<sup>+</sup>, y una vez activados expresan el marcador CD27<sup>+</sup>. (Cepok et al., 2006) (Cepok et al., 2005).

### **Neuroinflamación**

El concepto tradicional de que el cerebro es un órgano "inmuno-privilegiado" se basa en la capacidad de restricción que le brinda la barrera hematoencefálica (Pachter, de Vries, & Fabry, 2003), y en la capacidad que tienen todas las células residentes del sistema nervioso central de desencadenar una respuesta inmunitaria innata (Rempel, Quina, Blakely-Gonzales, Buchmeier, & Gruol, 2005), la cual, representa la primera línea de defensa contra las diferentes infecciones. Por lo tanto, es meritorio describir y conocer el proceso inflamatorio

particularmente en el sistema nervioso central (Town, Nikolic, & Tan, 2005).

Como breve introducción a la neuroinmunología, es importante recordar que, en el SNC, la microglia es la principal célula responsable de la defensa inmunológica y forma parte de la respuesta inmunitaria innata. En situaciones fisiológicas normales, la microglia se encuentra en estado inactivo produciendo citocinas anti-inflamatorias y factores neurotróficos que mantienen la homeostasis, mediante la comunicación con astrocitos y neuronas. Ante la presencia de un estímulo, como infección o daño tisular, la microglia se activa para eliminar al agente y reparar el daño celular por medio de la liberación de citocinas que influyen en el funcionamiento de los astrocitos y neuronas. En casos de inflamación sostenida, como sucede al no poder eliminar el estímulo exógeno o endógeno (por ejemplo, la producción de proteínas alteradas) o cuando la respuesta no se autolimita por los fenómenos reguladores inmunológicos, se producen sustancias que son tóxicas para las neuronas y generan pérdida neuronal (Glass, Saijo, Winner, Marchetto, & Gage, 2010).

La respuesta inmunológica se inicia por el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) por los receptores tipo Toll (TLR) presentes en la microglia y, en

menor medida, en astrocitos y neuronas. Estos receptores no sólo reconocen moléculas ajenas, también reconocen moléculas endógenas potencialmente dañinas, que en el caso de las enfermedades neurodegenerativas, tienen un papel etiológico importante (Sokolowski & Mandell, 2011). Además del reconocimiento de los PAMP, la microglia y los astrocitos captan la presencia de ATP, liberado tras la muerte celular, por medio de receptores purinérgicos; y también posee receptores tipo carroñeros involucrados en la captura de sustratos como proteínas oxidadas, lípidos y células apoptóticas. Una vez estimulados los receptores, se activa una cascada de señales intracelulares, por medio de factores de transcripción como el NF- $\kappa$ B, AP-1 y el IRF, que en última instancia llevan a la transcripción de genes que codifican para proteínas proinflamatorias, con la finalidad de amplificar la respuesta inmunitaria por medio del involucro de astrocitos y al atraer más células inmunológicas al sitio dañado para iniciar la respuesta adaptativa. Los genes que se activan tras el estímulo codifican para citocinas como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , quimiocinas como MCP-1, proteínas con efecto microbicida como iNOS, proteínas involucradas en la fagocitosis y presentación de antígenos, y síntesis de especies reactivas de oxígeno a través del sistema NADPH oxidasa; teniendo como efecto secundario el daño al parénquima cerebral (Glass et al., 2010).

Los macrófagos, incluyendo la microglia, presentan dos fenotipos de activación: el fenotipo M1 que son activados clásicamente en respuesta al IFN- $\gamma$  producido por los linfocitos Th1 o por la señalización mediada por los TLR, y el fenotipo M2 o con activación alterna, que se generan en respuesta a citocinas de linfocitos Th2 como la IL-4 e IL-13. (Luo, Ding, & Chen, 2010) (Ongradi & Kovesdi, 2010).

En las enfermedades neurodegenerativas, una vez que se ha desencadenado la respuesta inflamatoria local, existe una alteración en la función de la BHE, que resulta en un incremento en la permeabilidad de la misma, lo que facilita el intercambio de citocinas y células del sistema inmunológico, como células mieloides o linfocíticas (Luo et al., 2010), entre los medios centrales y periféricos (Sokolowski & Mandell, 2011).

### **Teorías inmunológicas de la esquizofrenia**

Se han establecido tres teorías que involucran el sistema inmunitario con la esquizofrenia. Smith y Maes, propusieron la teoría de los macrófagos-linfocitos T en la que sugiere que la activación crónica de estas células produce IL-1, IL-2, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que actúan como mediadores fundamentales en la esquizofrenia (Smith & Maes, 1995). Schwarz et al., propusieron la hipótesis Th2 que argumenta que existe una disminución en

la función de las células Th1 hacia un predominio de células con un perfil Th2 (anticuerpos-dependientes) en la esquizofrenia (Schwarz, Muller, Riedel, & Ackenheil, 2001). Finalmente, Monji et al., describieron la teoría de la microglia, en la sostienen que la microglia activada libera citocinas proinflamatorias y radicales libres que causan las anormalidades en la neurogénesis, degradación neural y alteraciones en la sustancia blanca que contribuyen con la fisiopatología de la esquizofrenia (Monji, Kato, & Kanba, 2009).

La teoría inflamatoria de la esquizofrenia vinculada con las citocinas sugiere que éstas pueden influir y alterar la neurotransmisión, el neurodesarrollo, la neurodegeneración y en la actividad de las redes neurales, por lo que estos podrían ser factores potenciales capaces de inducir los síntomas psiquiátricos. A propósito de esto, se han identificado niveles elevados de diferentes marcadores inflamatorios en el suero de sujetos con esquizofrenia, que se cree podrían estar relacionados con el estado de la enfermedad, comorbilidades metabólicas y la respuesta al tratamiento con antipsicóticos (O'Connell et al., 2014).

En las últimas décadas, los estudios han sugerido que la activación del sistema de respuesta proinflamatoria mediada por citocinas puede desempeñar un papel clave en la patogénesis

de la esquizofrenia. Por ejemplo, Naudin et al. (1997) y Lin et al. (1998) encontraron que, comparados con controles sanos, los sujetos con esquizofrenia crónica tienen un incremento significativo de TNF- $\alpha$  e IL-6 en suero (Naudin, Capo, Giusano, Mege, & Azorin, 1997) (Lin et al., 1998).

Otros estudios avalan una respuesta proinflamatoria sistémica en pacientes con esquizofrenia, caracterizada por un incremento de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  y proteínas de fase aguda como la proteína C reactiva. Además, también se ha reportado un aumento en las concentraciones de IL-6 en suero en pacientes con esquizofrenia, encontrándose una correlación positiva entre los niveles de IL-6 y un curso desfavorable de la enfermedad (Muller, 2008). En la siguiente tabla se resumen algunos artículos que han destacado por sus hallazgos y metodología.

<b>Estudios sobre la teoría inflamatoria vinculada a citocinas</b>		
<b>Autor y año</b>	<b>Procedimiento</b>	<b>Principales resultados</b>
Zhang et al. (2016).	Estudio longitudinal con 92 sujetos con esquizofrenia tratados por al menos 12 meses con	Disminución en los niveles de BDNF y TNF- $\alpha$ y un incremento en las concentraciones de IL-2, IL-6 e IL-8. Correlación positiva entre las bajas

	antipsicóticos atípicos, incluidos 49 tratados con clozapina, y 60 sujetos control.	concentraciones de BDNF y TNF- $\alpha$ con peores resultados en la subescala positiva de la PANSS.
Li et al. (2016).	Estudio comparativo con 40 pacientes con esquizofrenia del hospital de Shanghai contra sujetos control.	Incremento en los niveles de IL-17, IL-23 y TGF- $\beta$ 1 y disminución en las concentraciones de C3 en los sujetos con esquizofrenia; correlación lineal entre IL-17 y TGF- $\beta$ 1 con la gravedad de la escala PANSS; correlación inversa entre C3 con la PANSS total.
Pandey et al. (2015).	Estudio transversal en 30 pacientes diagnosticados con esquizofrenia.	El mRNA y los niveles de IL-6 y TNF- $\alpha$ estaban incrementados en linfocitos y plasma; y mayor expresión de IL-1R1.
O'Connell et al. (2014).	Estudio transversal en 91 sujetos con esquizofrenia tratados con clozapina (rango de tiempo de tratamiento entre 0.25 a 19 años y con rango de dosis de 125 a 900 mg) y 50 controles sanos.	Incremento en las concentraciones de IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17, IL-23 en los sujetos con clozapina en comparación con los controles. En las mujeres tratadas con clozapina se reportó un incremento en IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-17, IL-23 e IL-6 que correlacionó con el incremento en el IMC.
Witte et al. (2014).	Primer metaanálisis con cinco cohortes provenientes de	Incremento en las concentraciones de IL-1RA, IL-10 e IL-15. A las

	tres centros de Alemania y uno en Holanda con 180 pacientes con esquizofrenia en primer episodio psicótico y vírgenes al tratamiento contra 350 sujetos control agrupados por edad, género e IMC.	seis semanas de seguimiento a una de las cohortes en tratamiento con antipsicóticos atípicos y encontraron disminución en los niveles de IL-10 e IL-1RA. Correlación lineal entre la IL-10 con el puntaje total y las subescalas negativa y general de la PANSS.
Dimitrov D et al. (2013).	Estudio de cohorte con 47 veteranos de Texas con diagnóstico de esquizofrenia de acuerdo al DSM-IV en tratamiento con antipsicóticos atípicos (incluidos cinco sujetos tratados con clozapina) comparados con 20 controles demográficos sanos.	Correlación lineal entre el puntaje del PANSS con los niveles de G-CSF, IL-1 $\beta$ , IL-1RA, IL-3, IL-6, IL-9, IL-10 y TNF- $\beta$ m.
Beumer W et al. (2012).	Estudio transversal en sujetos con esquizofrenia contra controles sanos, comparados según el IMC, comorbilidades metabólicas y el uso de antipsicóticos.	Elevación en las citocinas relacionadas con monocitos/macrófagos como IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, PTX3 y adiponectina en suero de sujetos con esquizofrenia crónica. Realizaron un análisis multivariado considerando los factores confusores y encontraron de forma consistente un

		incremento en IL-1 $\beta$ e IL-6.
Miller et al. (2011).	Meta-análisis que incluyó 14 estudios sobre alteraciones en citocinas en pacientes con esquizofrenia en primer episodio psicótico en suero (N= entre 4 y 83).	Incremento en las citocinas liberadas por macrófagos: TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ , de las citocinas derivadas de un perfil Th1: IL-12 e IFN- $\gamma$ , y del receptor soluble de IL-2 en los sujetos con primer episodio psicótico comparados con controles.
Potvin et al. (2008).	Meta-análisis que incluyó 19 estudios y 1219 pacientes.	Concentraciones elevadas <i>in vivo</i> de interleucinas periféricas (IL)-1RA, sIL-2R e IL-6 en sujetos con esquizofrenia.

Resalta que estas citocinas reportadas tienen un perfil predominantemente pro-inflamatorio y que sus niveles disminuyeron con el uso de antipsicóticos, por lo que se hipotetiza que probablemente los antipsicóticos puedan ejercer un efecto sobre la inflamación, lo que es consistente con que los efectos adversos de los antipsicóticos se han correlacionado con incremento en las concentraciones de citocinas pro-inflamatorias (Dieset et al., 2012).

En relación con las proporciones linfocitaria en los estudios longitudinales se destaca la relación CD4+/CD8+ porque disminuye después del tratamiento antipsicótico indicado en las exacerbaciones agudas de la psicosis, por lo que parecía ser considerado como un probable marcador de estado. Mientras que los niveles absolutos CD56+ parecen ser un marcador de rasgo, ya que los niveles aumentaron significativamente después del tratamiento antipsicótico para la recaída (Miller et al., 2011).

Cazullo et al, reportó un aumento de CD4+, las células CD8+ y CD45RA en los pacientes con esquizofrenia, lo que sugiere un predominio mayor de células T vírgenes al antígeno. Concluyó que factores exógenos presentes en el cuerpo de los sujetos con esquizofrenia influyen en la expansión de las poblaciones CD4+ y CD8+ y en la reducción en el número de células de memoria CD45RA- (Cazzullo et al., 1998).

El modelo del neurodesarrollo de la esquizofrenia, en el que la microglia juega un papel fundamental, sugiere un modelo de dos "lesiones", donde la primera lesión ocurre durante el periodo prenatal probablemente por una infección viral o bacteriana que activan la microglia y las vías inflamatorias, seguido de una segunda inflamación que impacta durante la adolescencia con la consecuente respuesta inmunitaria.

Interesantemente, muchos genes estudiados en procesos neurodegenerativos como la demencia de Alzheimer han demostrado ser genes de susceptibilidad para esquizofrenia. La microglia, algunas citocinas inflamatorias, los catabolitos de la vía del triptófano y los radicales libres como el superóxido y NO en el SNC juegan un rol crucial en las enfermedades neuroprogresivas (Kato et al., 2011). Estudios post-mortem y por PECT indican la presencia de microglia activada en pacientes con esquizofrenia (Steiner et al., 2008) (Takano et al., 2010) y estudios in vitro sugieren que los antipsicóticos tienen un efecto antiinflamatorio en la microglia activada.

Otro hallazgo que apoya esta teoría es que se ha encontrado que la microglia se encuentra activada durante la psicosis (Bessis, Bechade, Bernard, & Roumier, 2007). Además, la microglia activada estimula a los astrocitos a producir S100B, un marcador de inflamación, que es considerado el equivalente de la proteína C-reactiva (PCR) en el cerebro (Sen & Belli, 2007). Sumado a estos hallazgos, se sabe que el tratamiento con antipsicóticos como haloperidol y clozapina pueden disminuir los niveles de S100B liberado por las células gliales (Zhang et al., 2010).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La esquizofrenia representa el arquetipo de las enfermedades psiquiátricas, sin embargo, debido a su complejidad, la investigación actual aún no ha logrado dilucidar los mecanismos fisiopatológicos involucrados en su génesis.

Actualmente, la teoría inmunológica ha sido motivo de estudio debido a que cada vez existen más estudios que sugieren alteraciones en este sistema en los sujetos con esquizofrenia y a que resulta un modelo integral que vincula las alteraciones neuroquímicas con el estado clínico.

Es importante destacar que además de las alteraciones documentadas, se sabe que existe cambio en los perfiles inmunitarios posterior al tratamiento antipsicótico, por lo que un mayor conocimiento sobre esto podría derivar en identificar un posible marcador de estado o de rasgo o en un posible blanco terapéutico coadyuvante para mejorar el curso clínico de estos pacientes.

De acuerdo a lo ya descrito, nos interesó conocer cuál era el perfil inmunitario en sujetos con esquizofrenia vírgenes/lavados y resistentes al tratamiento sin otra comorbilidad para un mejor entendimiento del rol del sistema inmunológico en nuestra población y tratar de entender las

posibles diferencias y su impacto en la clínica entre ambos grupos.

## **JUSTIFICACIÓN**

El síndrome psicótico representa un importante modelo de investigación para el conocimiento de los aspectos neurobiológicos e inmunológicos implicados durante su patogenia, con la finalidad de aplicar el conocimiento obtenido en el diseño de mejores estrategias terapéuticas para los pacientes.

Nuestra propuesta de estudio permite contar con pacientes con clínica característica de esquizofrenia con valoraciones que se presumen completas para intentar determinar el perfil inmunológico entre pacientes vírgenes/lavados y resistentes al tratamiento antipsicótico.

El objetivo principal de la investigación de corte inmunológico, además de brindar conocimiento sobre la compleja interacción entre estas poblaciones celulares y su influencia en la neurotransmisión, es tratar de identificar un marcador de estado para exacerbación de síntomas positivos o de respuesta al tratamiento, ya que el curso de la enfermedad es crónico con posibles episodios de recaída.

En relación a la investigación, obtener muestras sanguíneas de pacientes con esquizofrenia vírgenes/lavados y resistentes al tratamiento en conjunto con la información

clínica obtenida el mismo día de la toma de muestra, permite conocer las diferencias inmunológicas entre ambos pacientes para correlacionar con información clínica.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo principal**

Determinar si existe diferencia en las proporciones de células cooperadores (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>), células citotóxicas (CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>), células B (CD19<sup>+</sup>), células NK (CD3<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>) y monocitos (CD14<sup>+</sup>) entre pacientes con esquizofrenia resistentes y vírgenes/lavados al tratamiento por medio de citometría de flujo.

### **Objetivos secundarios**

- o Correlacionar la expresión de las poblaciones linfocitarias (células/ml) con la sintomatología entre los grupos de estudio.
- o Identificar si existe correlación significativa entre los porcentajes linfocitarios y la gravedad de síntomas entre grupos.
- o Realizar un índice CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> para determinar si existen diferencias entre los grupos.
- o Correlacionar el resultado del índice CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> con la gravedad de sintomatología clínica entre grupos.
- o Correlacionar el porcentaje y número de células NK (CD3<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>) con la gravedad de sintomatología clínica entre grupos.

- o Correlacionar el porcentaje y número de células B (CD19<sup>+</sup>) con la gravedad de sintomatología clínica entre grupos.
- o Correlacionar el porcentaje y número de monocitos (CD14<sup>+</sup>) con la gravedad de sintomatología clínica entre grupos.

## **HIPÓTESIS**

### **Hipótesis nula**

No existe diferencia en la proporción de linfocitos entre pacientes con esquizofrenia resistentes y vírgenes/lavados al tratamiento.

### **Hipótesis alterna**

Existe diferencia la proporción de linfocitos entre pacientes con esquizofrenia resistentes y vírgenes/lavados al tratamiento.

## **METODOLOGÍA**

### **Diseño del estudio**

Se trata de un estudio prospectivo, observacional, transversal y analítico.

### **Población y muestra**

La población de estudio fueron los pacientes con diagnóstico de esquizofrenia resistentes y vírgenes/lavados al tratamiento atendidos en el INPRF en los servicios de consulta externa, Atención Psiquiátrica Continua (APC), haciendo una selección no probabilística por criterio de la muestra en el periodo de tiempo comprendido entre el 1 de abril del 2015 al 1 de diciembre del 2016.

### **Criterios de selección**

#### ***Grupo de estudio***

#### **Criterios de inclusión**

- Pacientes de género masculino o femenino.
- Pacientes con edad entre 18 y 60 años.

- Pacientes con diagnóstico de esquizofrenia de acuerdo a los criterios establecidos por el DSM-5.
- Paciente con criterios de resistencia al tratamiento antipsicótico de acuerdo a los criterios establecidos por las guías clínicas.
- Pacientes en lo que se inicie tratamiento con clozapina y que mantengan adecuado apego por 20 semanas.
- Pacientes sin otras condiciones médicas, sin antecedente de alergias, sin una enfermedad infecciosa diagnosticada, sin antecedentes de enfermedades autoinmunitarias o que reciban tratamientos con esteroides o estrógenos.
- Pacientes con consumo de café menor a dos tazas al día; consumo de tabaco menor a 7 cigarrillos al día: y de alcohol de menos de 3 copas por semana.
- Pacientes que acepten participar en el estudio y firmar el consentimiento informado.

#### **Criterios de exclusión**

- Pacientes fuera del rango de edad de 18 a 60 años.

- Pacientes en los que se diagnostique otra condición médica.
- Pacientes con alteración en el estado de consciencia.
- Pacientes con diagnóstico clínico de discapacidad intelectual.
- Pacientes o familiares que rechacen colaborar en el estudio, de acuerdo a lo expuesto en el consentimiento informado.
- Pacientes de los que se obtenga muestra sanguínea insuficiente para la medición de las variables motivo de estudio.

#### **Criterios de eliminación**

- Pacientes de los que se obtenga muestra sanguínea insuficiente para la medición de las variables motivo de estudio.
- Pacientes en los que durante la evolución clínica se modifique el diagnóstico de esquizofrenia.
- Pacientes que decidan suspender su participación en el estudio en cualquier momento del mismo.

#### ***Grupo control***

### **Criterios de inclusión**

- Pacientes de género masculino o femenino.
- Pacientes con edad entre 18 y 60 años.
- Pacientes con diagnóstico de esquizofrenia de acuerdo a los criterios establecidos por el DSM-5.
- Pacientes vírgenes al tratamiento o que lo hayan suspendido por un periodo de al menos ocho semanas (lavados).
- Pacientes sin otras condiciones médicas, sin antecedente de alergias, sin una enfermedad infecciosa diagnosticada, sin antecedentes de enfermedades autoinmunitarias o que reciban tratamientos con esteroides o estrógenos.
- Pacientes con consumo de café menor a dos tazas al día; consumo de tabaco menor a 7 cigarrillos al día: y de alcohol de menos de 3 copas por semana.
- Pacientes que acepten participar en el estudio y firmar el consentimiento informado.

### **Criterios de exclusión**

- Pacientes fuera del rango de edad de 18 a 60 años.

- Pacientes en los que se diagnostique otra condición médica.
- Pacientes con alteración en el estado de consciencia.
- Pacientes con diagnóstico clínico de discapacidad intelectual.
- Pacientes o familiares que rechacen colaborar en el estudio, de acuerdo a lo expuesto en el consentimiento informado.

**Criterios de eliminación**

- Pacientes de los que se obtenga muestra sanguínea insuficiente para la medición de las variables motivo de estudio.
- Pacientes en los que durante la evolución clínica se modifique el diagnóstico de esquizofrenia.
- Pacientes que decidan suspender su participación en el estudio en cualquier momento del mismo.

**Definición de variables**

VARIABLE	CLASIFICACIÓN	TIPO DE VARIABLE	DE ESCALAS DE MEDICIÓN
Edad	Independiente	Numérica discreta	Expediente clínico

Género	Independiente	Nominal dicotómica	Expediente clínico
Diagnóstico de esquizofrenia	Independiente	Nominal dicotómica	Criterios diagnósticos del DSM-5
Criterios de resistencia al tratamiento	Independiente	Nominal dicotómica	Expediente clínico (criterios de resistencia al tratamiento)
Gravedad de sintomatología	Dependiente	Ordinal	Puntaje global de la gravedad de síntomas obtenidos en el PANSS
Peso	Independiente	Numérica continua	Expediente clínico
Talla	Independiente	Numérica continua	Expediente clínico
IMC	Independiente	Numérica continua	Expediente clínico
Número de linfocitos T cooperadores (CD3+CD4+)	Independiente	Numérica continua	Citometría de flujo
Porcentaje de linfocitos T	Independiente	Numérica continua	Citometría de flujo

cooperadores (CD3+CD4+)				
Número de linfocitos T citotóxicos (CD3+CD8+)	Independiente	Numérica continua	Citometría de flujo	
Porcentaje de linfocitos T citotóxicos (CD3+CD8+)	Independiente	Numérica continua	Citometría de flujo	
Número de células NK (CD3 <sup>-</sup> , CD16 <sup>+</sup> , CD56 <sup>+</sup> )	Independiente	Numérica continua	Citometría de flujo	
Porcentaje de células NK (CD3 <sup>-</sup> , CD16 <sup>+</sup> , CD56 <sup>+</sup> )	Independiente	Numérica continua	Citometría de flujo	
Número de monocitos (CD14 <sup>+</sup> )	Independiente	Numérica continua	Citometría de flujo	
Porcentaje de monocitos (CD14 <sup>+</sup> )	Independiente	Numérica continua	Citometría de flujo	

## **Escalas e instrumentos de medición**

### **Formato de identificación y datos sociodemográficos**

Se realizó un formato para recabar los datos de identificación del paciente que se compone de cinco apartados en donde se registraron los datos sociodemográficos y clínicos que fueron obtenidos mediante el interrogatorio directo al paciente o familiar responsable.

En el primer apartado del formato de identificación incluye los datos demográficos del paciente como nombre, edad, sexo, estado civil, fecha y lugar de nacimiento, dirección, teléfonos, correo electrónico, fecha de ingreso al proyecto, fecha de toma de muestra y número de semanas con el tratamiento actual.

El segundo apartado incluye los datos diagnósticos del paciente en donde se registró el diagnóstico del paciente, fecha del diagnóstico, la presencia o no de resistencia, se especifican los nombres de los fármacos a los que se documentó resistencia, las fechas de cambio de tratamiento farmacológico, fármaco actual, otros fármacos indicados con la dosis y tiempo de consumo, diagnóstico de comorbilidad y observaciones generales.

El tercer apartado se compuso de los datos clínicos del participante en donde se registraron el peso, talla, IMC, cintura, cadera, relación cintura-cadera y la fecha de última menstruación.

En el cuarto apartado se registraron los puntajes obtenidos en las escalas aplicadas al ingreso del proyecto: PANSS, B&FCRS, el Test de Fagerström de dependencia a nicotina (FTND), Escala Morisky de Adherencia a los Medicamentos (MMAS-8) y observaciones generales.

En el último apartado se registraron los puntajes de la escala PANSS (total y sub escalas positiva, negativa, cognitiva, de excitabilidad y depresión), porcentaje de mejoría y fecha de aplicación.

### **Instrumentos de evaluación**

Para la evaluación de la psicopatología de la esquizofrenia se aplicó la escala PANSS que ha mostrado fiables propiedades psicométricas, con un índice de correlación de Pearson de 0.81 a 0.93 en la valoración de síntomas positivos.

Además, se aplicó la escala FTND para descartar dependencia a nicotina, que tiene un índice de correlación de 0.53 ( $p < 0.001$ ) entre el puntaje de gravedad y las

concentraciones de nicotina en suero (Heatherton, Kozlowski, Frecker, & Fagerstrom, 1991). También, se aplicó la escala MMAS-8 para garantizar el apego al tratamiento, que ha mostrado ser una escala fiable para el auto reporte de adherencia al tratamiento con un Alfa de Cronbach de 0.61 (Morisky, Green, & Levine, 1986).

### **Procedimientos**

Se seleccionaron a los pacientes que fueron atendidos en el INPRF en los servicios de Atención Psiquiátrica Continua (APC), preconsulta, consulta externa general y clínica de esquizofrenia y trastornos del espectro de acuerdo a los criterios de selección. En caso de que el médico tratante indicó la realización de una citometría hemática de control, se solicitó al paciente su colaboración en el estudio y se proporcionó para su lectura y revisión la carta de consentimiento informado al paciente y/o familiar **(ANEXO I)**. Cuando el paciente y/o familiar decidió participar en el estudio, se realizó la toma de muestra y se colocó en cuatro tubos de vidrio a temperatura ambiente y se almacenaron en el laboratorio de psicoimmunología para su posterior análisis. Posteriormente, se realizó la valoración de los pacientes aplicando la escala PANSS **(ANEXO II)**, la escala FTND **(ANEXO**

**III)** y la MMAS-8 (**ANEXO IV**). Los datos obtenidos de las escalas y la información de interés obtenida del expediente clínico se registraron en el formato de ficha de identificación (**ANEXO V**).

Dentro del análisis químico, se realizó la determinación de poblaciones linfocitaria: células cooperadoras (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>), células citotóxicas (CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>), células B (CD19<sup>+</sup>), células NK (CD3<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>) y monocitos (CD14<sup>+</sup>) por medio de citometría de flujo optimizada en el laboratorio de psicoimmunología. Las variaciones en la población de subgrupos de linfocitos circulantes se determinaron por citometría de flujo usando anticuerpos marcados con fluorescencia contra el CD específico para los tipos celulares estudiados. La población específica se expresó en número de células/ml de sangre total y porcentajes.

Los datos sociodemográficos, valoraciones clínicas y los valores obtenidos por citometría de flujo se almacenaron en una base de datos diseñada por el investigador y se realizó análisis estadístico con el programa IBM SPSS Statistics versión 20 para sistema operativo Windows.

## Flujograma



## Análisis estadístico

1. Se realizó estadística descriptiva en cada grupo en términos de:

- a) Presentación de datos en tablas y gráficos pertinentes.
- b) En las variables numéricas se determinará la media y desviación estándar
- c) En las variables nominales se determinará el número de casos y proporciones

2. Se realizó estadística inferencial mediante las siguientes pruebas:

- a) Prueba de Chi-cuadrada ( $X^2$ ) de Pearson, para comparar variables nominales entre grupos.
- b) Prueba de U de Mann-Whitney, para comparar variables numéricas entre grupos.
- c) Coeficiente de correlación de Spearman para determinar la relación entre variables numéricas con respecto a otras variables numéricas.
- d) Se realizaron tablas y gráficos para la presentación de datos con su correspondiente valor estadístico.

## Cronograma de actividades

<i>Actividad</i>	Diciembre 2014	Marzo 2015	Abril a diciembre del 2015	1er trimestre 2016	2do trimestre 2016	3er trimestre del 2016	Enero 2017
<i>Entrega de anteproyecto</i>	X						
<i>Dictamen por el comité de tesis y de ética</i>		X					
<i>Captación de sujetos</i>			X	X	X	X	
<i>Concentración de datos</i>						X	
<i>Análisis de resultados</i>							X
<i>Elaboración de informe final y entrega de proyecto</i>							X

## **ASPECTOS ÉTICOS, FINANCIEROS Y DE BIOSEGURIDAD**

Todos los casos incluidos en este estudio aceptaron participar en el estudio posterior a la lectura y firma de la carta de consentimiento, en la que se garantizó que el paciente no iba a ser sometido a ningún riesgo durante su participación.

A los sujetos incluidos se les identificó con un número de folio asignado por los investigadores para garantizar la confidencialidad de sus datos.

Las tomas de muestra de sangre se realizaron bajo el criterio del médico tratante y no por decisión o petición del investigador.

Se realizaron las tomas de muestra por personal médico o de laboratorio capacitado del INPRF y se extrajeron aproximadamente 20 ml de sangre que se utilizaron para la medición de las variables motivo del estudio, los cuales no alteran la homeostasis, ni ponen en riesgo al paciente.

El laboratorio de neuroquímica de psicoimmunología del INPRF cuenta con el equipo necesario y el personal capacitado para la evaluación y medición de las variables del estudio, obteniendo la financiación por el presupuesto institucional.

## **RESULTADOS**

Se incluyeron un total de 14 sujetos de los servicios de APC, preconsulta, consulta externa general, hospital y clínica de esquizofrenia y trastornos del espectro del INPRF, siete pertenecen al grupo de vírgenes/lavados al tratamiento y siete al grupo de resistentes al tratamiento convencional en tratamiento con clozapina.

De los siete pacientes vírgenes/lavados al tratamiento, dos habían recibido tratamiento antipsicótico anteriormente, pero con irregular apego al tratamiento, sin completar un ensayo de antipsicótico completo y llevaban ocho semanas y un año y medio respectivamente sin consumo de algún fármaco, por lo que se consideraron vírgenes/lavados al tratamiento. Dentro de los sujetos tratados con clozapina, una paciente presentaba otras comorbilidades por trastorno obsesivo-compulsivo, hipertiroidismo y crisis convulsivas, todas ellas controladas por lo que se decidió incluirla en el estudio y, otro sujeto tenía antecedente de consumo ocasional de cannabis, pero se encontraba en remisión por seis meses, por lo que también se decidió incluirlo.

De los 14 pacientes incluidos en total, el 64.3% (n=9) eran mujeres y 35.7% (n=5) hombres. Al realizar el análisis descriptivo por grupos, en los vírgenes/lavados al tratamiento

se reportó una frecuencia de cinco mujeres y dos hombres y en el grupo de resistentes al tratamiento se reportó una frecuencia de cuatro mujeres y tres hombres.

La media de edad en el grupo vírgenes/lavados fue de 38.86 años (D.E.= 13.23 años; rango 22-53 años). En el grupo de resistentes, la media de la edad fue 29.43 años (D.E.= 6.47 años; rango 21-42 años).

En relación con el estado civil, sólo dos sujetos del grupo vírgenes/lavados eran casados, los doce restantes se encontraban solteros al momento del estudio.

Sobre el consumo de tabaco evaluado con la escala FTND, en el grupo de sujetos resistentes al tratamiento hubo una frecuencia de tres sujetos fumadores, de los cuales dos obtuvieron tres puntos en la escala que es equivalente a dependencia a tabaco leve y uno con cinco puntos que es equivalente a dependencia moderado, el puntaje promedio del grupo fue de 1.57 que equivale a dependencia a tabaco leve. En el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento, ninguno tuvo consumo de tabaco.

Particularmente en el grupo de pacientes resistentes tratados con clozapina, se realizó la escala MMAS-8 para evaluar el apego a tratamiento y se obtuvo un puntaje promedio

de 2.57 que se traduce como una adherencia media al tratamiento. La dosis promedio de clozapina en el grupo de resistentes al tratamiento fue de 132.14 mg, con un rango de 25 a 300 mg. El tiempo promedio de tratamiento con clozapina fue de 29.42 semanas con un rango de una a 72 semanas.

Dentro de las variables clínicas antropomórficas, en el grupo vírgenes/lavados el peso promedio fue de 61.38 kg (D.E.=11.34; rango 52-85 kg); IMC promedio fue de 23.05 Kg/m<sup>2</sup> (D.E.= 4.9 Kg/m<sup>2</sup> 0; rango 18.40-31.22 Kg/m<sup>2</sup>). En el grupo de resistentes, el peso promedio fue de 66.2 kg (D.E.=14.36 kg; rango 44.2-83.0 kg); sobre el IMC el promedio fue de 25.55 Kg/m<sup>2</sup> (D.E.= 3.88 Kg/m<sup>2</sup>; rango 18.39-29.72 Kg/m<sup>2</sup>). De acuerdo a estos resultados, el promedio de IMC en ambos grupos era por debajo del rango para considerar obesidad.

No se encontró diferencia significativa en las variables sociodemográficas con la prueba de Chi-cuadrada (X<sup>2</sup>) de Pearson entre ambos grupos.

Dentro de las variables clínicas, en el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento la media del puntaje total de la PANSS fue de 106.57 puntos (D.E.= 11.118 puntos; rango 93-128 puntos); en la sub escala positiva, la media fue de 32.86 puntos (D.E.= 8.8 puntos; rango 16-44 puntos); en la sub escala negativa la media fue de 27.14 puntos (D.E.= 7.8 puntos; rango

20-41 puntos); en la sub escala cognitiva la media fue de 23.43 puntos (D.E.= 3.3 puntos; rango 19-27 puntos); en la sub escala de excitabilidad la media fue de 11.29 puntos (D.E.= 2.9 puntos; rango 6-15 puntos) y en la sub escala de depresión la media fue de 11.86 puntos (D.E.= 1.34 puntos; rango 9-13 puntos). En el grupo de resistentes al tratamiento, la media de puntaje total de la PANSS fue 91.29 puntos (D.E.= 13.26 puntos; rango 70-103 puntos); en la sub escala positiva la media fue de 26 puntos (D.E.= 5.03 puntos; rango 20-33 puntos); en la sub escala negativa la media fue de 27.43 puntos (D.E.= 6.8 puntos; rango 18-39 puntos); en la sub escala cognitiva la media fue de 19.43 puntos (D.E.= 2.3 puntos; rango 15-22 puntos); en la sub escala de excitabilidad la media fue de 8.29 puntos (D.E.= 3.49 puntos; rango 4-13 puntos); en la sub escala de depresión la media fue de 10.57 (D.E.= 3.59 puntos; rango 5-14 puntos). En relación con las valoraciones clínicas realizadas con la PANSS, se encontró diferencia significativa con la prueba U de Mann-Whitney en el puntaje total de la PANSS entre grupos ( $p= 0.038$ ), siendo mayor en los sujetos vírgenes/lavados al tratamiento comparados con los resistentes. También, existe diferencia significativa en el puntaje de la PANSS sub escala cognitiva entre grupos ( $p= 0.038$ ) con la prueba U de Mann-Whitney, con un puntaje mayor en los sujetos vírgenes/lavados al tratamiento.

Los resultados sociodemográficos, antropometría y puntajes de la PANSS comparados por grupos se muestran en la siguiente tabla.

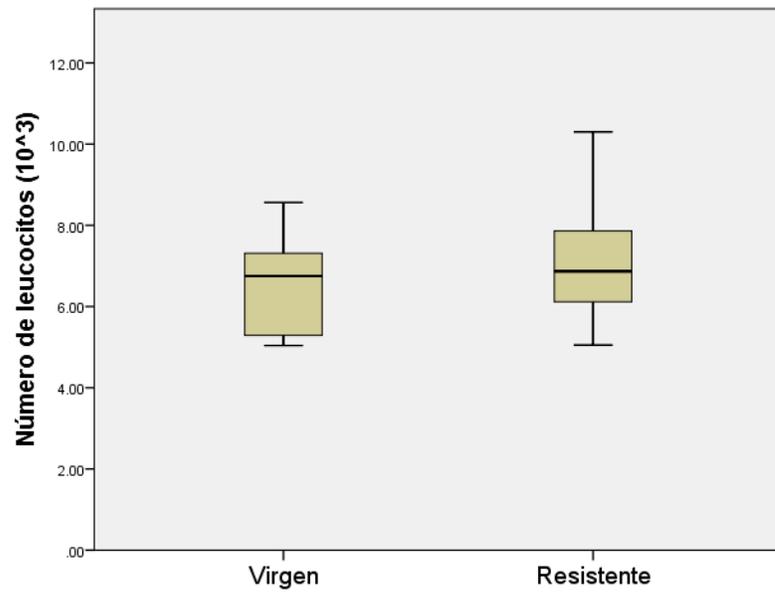
Característica	Grupo virgen n=7		Grupo resistentes n=7	
	Media	(D.E.)	Media	(D.E.)
<b>Edad</b>	38.86	(13.23)	29.43	(6.47)
<b>IMC</b>	23.05	(4.9)	25.55	(3.88)
<b>FNTD</b>	Sin consumo		1.57	
<b>MMAS-8</b>	NA		2.57	
<b>PANSS</b>				
Total	106.57	(11.11)	91.29	(13.26)
Positiva	32.86	(8.8)	26	(5.03)
Negativa	27.14	(7.8)	27.43	(6.8)
Cognitiva	23.43	(3.3)	19.43	(2.3)
Excitabilidad	11.29	(2.9)	8.29	(3.49)
Depresión	11.86	(1.34)	10.57	(3.59)
	N		N	
<b>Género</b>				
Femenino	5		4	
Masculino	2		3	
<b>Estado civil</b>				
Soltero	5		7	
Casado	2		0	

Dentro del análisis descriptivo de las poblaciones linfocitarias se evaluaron las medias y error estándar, y los

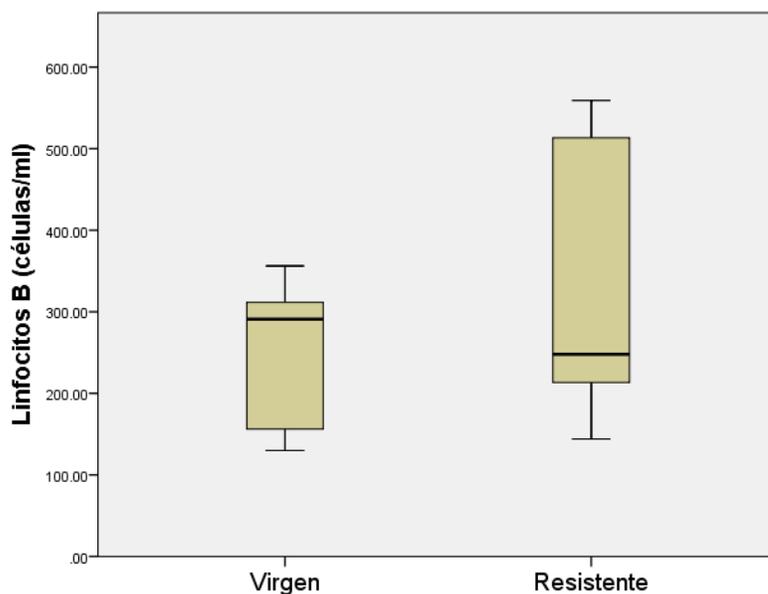
resultados de cada una de las células expresados en células/ml se muestran comparados entre grupos en diagramas de cajas y bigotes para la mejor observación de la dispersión de los resultados. En la siguiente gráfica se muestra un resumen del análisis descriptivo de las subpoblaciones linfocitarias.

	Grupo virgen		Grupo resistentes		U (p)
	n=7		n=7		
	Media	(D.E.)	Media	(D.E.)	
Número de leucocitos (10 <sup>3</sup> )	6.50	(1.36)	7.16	(1.73)	30.500 (.456)
Linfocitos B (%)	3.91	(1.77)	2.35	(4.80)	32.500 (.318)
Linfocitos B (B/ml)	244.60	(93.98)	343.46	(176.59)	31.000 (.456)
Linfocitos T (%)	22.11	(9.53)	21.89	(10.90)	24.000 (1.000)
Linfocitos T (T/ml)	1389.12	(483.61)	1459.70	(589.77)	25.000 (1.000)
Linfocitos Th (%)	14.56	(7.31)	12.73	(5.59)	21.000 (.710)
Linfocitos Th(CD4+/ml)	910.82	(361.50)	861.39	(309.06)	22.000 (.805)
Linfocitos Tc(%)	7.54	(2.52)	8.11	(4.03)	26.000 (.902)
Linfocitos Tc(CD8+/ml)	478.94	(148.55)	530.25	(199.58)	29.000 (.620)
CD4+/CD8+	2.04	(1.01)	1.72	(0.65)	20.000 (.620)
NK (%)	2.82	(1.19)	2.95	(1.59)	24.000 (1.000)
NK (NK/ml)	187.55	(93.80)	200.82	(102.63)	27.000 (.805)
Monocitos (%)	5.15	(1.43)	5.04	(2.66)	26.000 (.902)
Monocitos (Mo/ml)	329.09	(84.50)	371.76	(255.97)	25.000 (1.000)
Puntaje en la prueba de U de Mann-Whitney (U).					
Nivel de significación p< 0.05.					

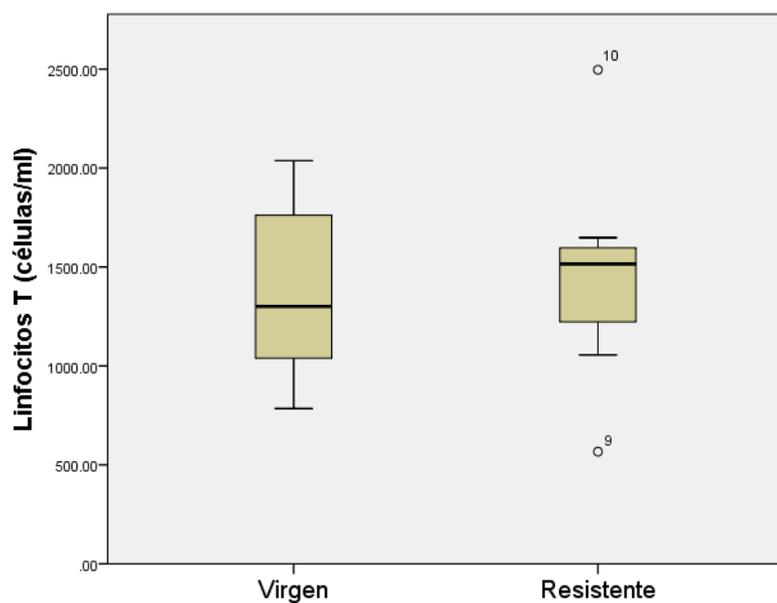
En relación con el número de leucocitos ( $10^3$ ), la media sin control entre grupos fue de 6.83(D.E.=1.53); en el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento la media fue de 6.50(D.E.=1.36) y en el grupo de resistentes fue de 7.16(D.E.=1.73).



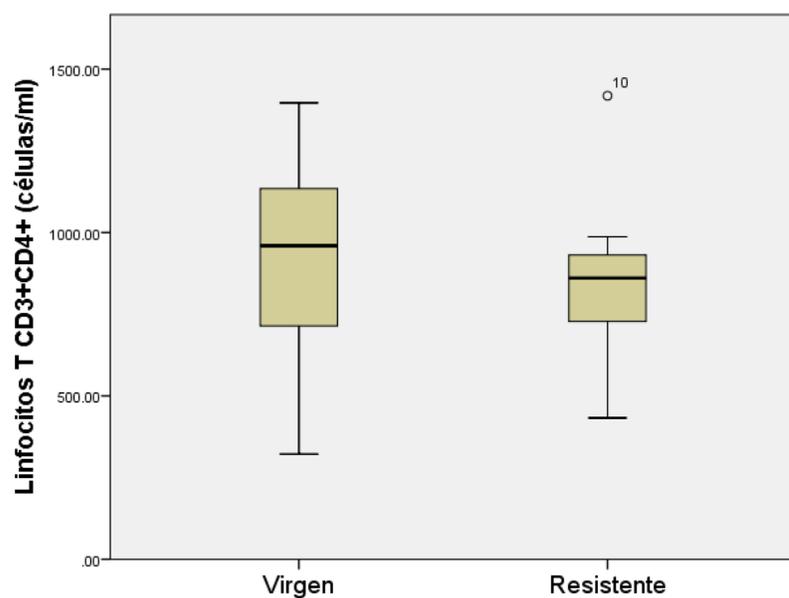
Para los linfocitos B, la media de toda la muestra fue de 294.03 B/ml (D.E.= 145.26 B/ml) y la media del porcentaje fue 4.35% (D.E.= 2.05%); en el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento la media fue de 244.60 B/ml (D.E.= 93.98 B/ml) y la media del porcentaje fue 3.91% (D.E.= 1.77%); en el grupo de resistentes al tratamiento la media fue de 343.46 B/ml (D.E.= 176.59 B/ml) y la media del porcentaje fue 4.80% (D.E.= 2.35%).



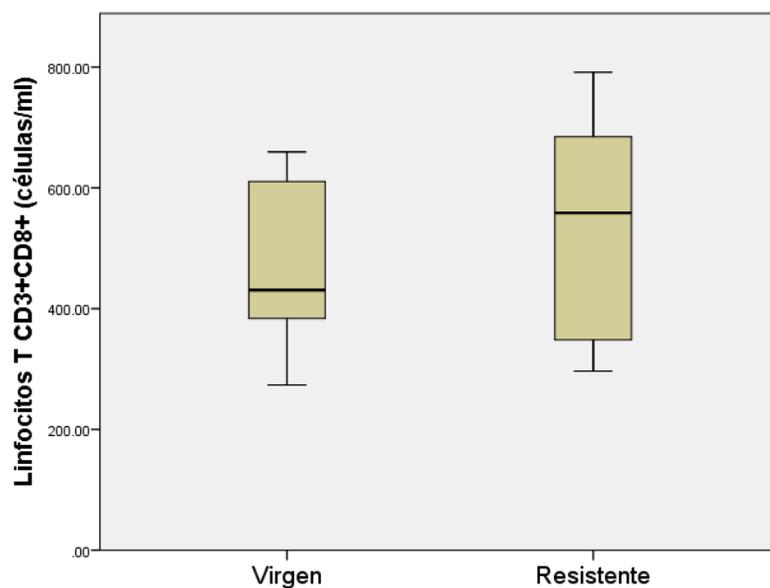
En el caso de los linfocitos T, la media de toda la muestra fue de 1424.41 T/ml (D.E.= 519.45 T/ml) y la media del porcentaje fue 22.00% (D.E.= 9.83%); en el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento la media fue de 1389.12 T/ml (D.E.= 483.61 T/ml) y la media del porcentaje fue 22.11% (D.E.= 9.53%); en el grupo de resistentes al tratamiento la media fue de 1459.70 T/ml (D.E.= 589.77 T/ml) y la media del porcentaje fue 21.89% (D.E.= 10.90%).



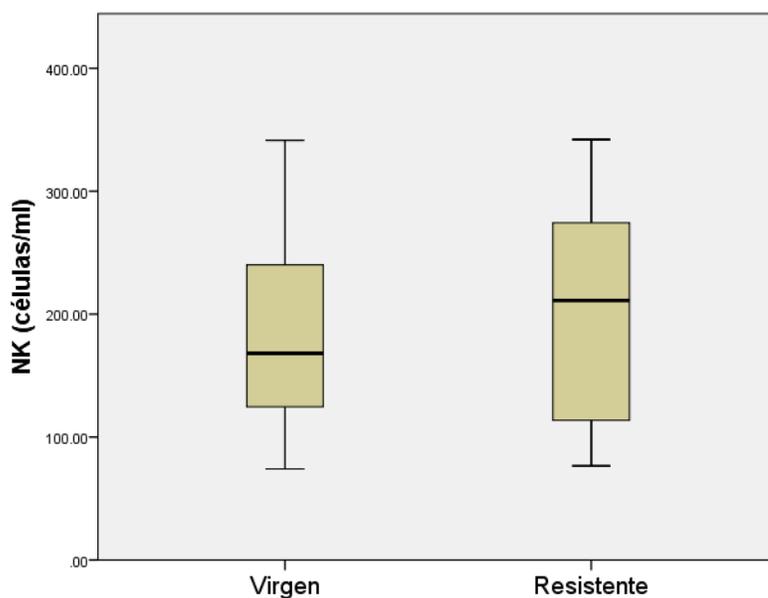
En el caso de los linfocitos T cooperadores (Th), la media de toda la muestra fue de 886.11 Th/ml (D.E.= 324.13 Th/ml) y la media del porcentaje fue 13.64% (D.E.= 6.32%); en el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento la media fue de 910.82 Th/ml (D.E.= 361.50 Th/ml) y la media del porcentaje fue 14.561% (D.E.= 7.31%); en el grupo de resistentes al tratamiento la media fue de 861.39 Th/ml (D.E.= 309.06 Th/ml) y la media del porcentaje fue 12.73% (D.E.= 5.59%).



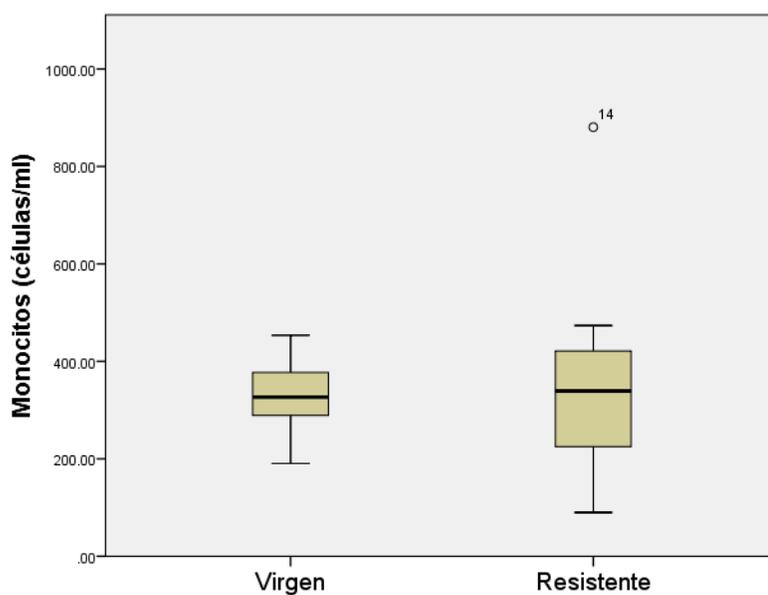
Para los linfocitos T citotóxicos (CD8<sup>+</sup>), la media de toda la muestra fue de 504.60 Tc/ml (D.E.= 171.11 Tc/ml) y la media del porcentaje fue 7.82% (D.E.= 3.25%); en el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento la media fue de 478.94 Tc/ml (D.E.= 148.55 Tc/ml) y la media del porcentaje fue 7.54% (D.E.= 2.52%); en el grupo de resistentes al tratamiento la media fue de 530.25 Tc/ml (D.E.= 199.58 Tc/ml) y la media del porcentaje fue 8.11% (D.E.= 4.03%).



Para los linfocitos NK, la media de toda la muestra fue de 194.18 NK/ml (D.E.= 94.71 NK/ml) y la media del porcentaje fue 2.88% (D.E.= 1.35%); en el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento la media fue de 187.55 NK/ml (D.E.= 93.80 NK/ml) y la media del porcentaje fue 2.82% (D.E.= 1.19%); en el grupo de resistentes al tratamiento la media fue de 200.82 NK/ml (D.E.= 102.63 NK/ml) y la media del porcentaje fue 2.95% (D.E.= 1.59%).



Finalmente, en el caso de los monocitos (Mo) la media de toda la muestra fue de 350.43 Mo/ml (D.E.= 184.46 Mo/ml) y la media del porcentaje de monocitos fue 5.09% (D.E.= 2.05%); en el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento la media fue de 329.09 Mo/ml (D.E.= 84.50 Mo/ml) y la media del porcentaje de monocitos fue 5.15% (D.E.= 1.43%); en el grupo de resistentes al tratamiento la media fue de 371.76 Mo/ml (D.E.= 255.97 Mo/ml) y la media del porcentaje fue 5.04% (D.E.= 2.66%).



Al realizar estadística inferencial, no hay diferencia en las medianas en ninguna de las proporciones celulares entre grupos al compararlos con pruebas no paramétricas.

Se realizó una relación entre las células Th/Tc para obtener el índice CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>. En los sujetos vírgenes/lavados la mediana del índice CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> fue 1.79 (SD= 1.01) y los sujetos resistentes tuvieron una mediana de 1.51 (SD= 0.656). No se encontró diferencia significativa en las medianas entre ambos grupos con pruebas no paramétricas.

Finalmente, se realizaron correlaciones entre los resultados de células totales y porcentaje de cada subpoblación linfocitaria con los puntajes de gravedad de la PANSS únicamente en el grupo de sujetos vírgenes/lavados al tratamiento, tomando en consideración que cuentan con características homogéneas en comparación con los sujetos resistentes al tratamiento en los que existe un rango amplio entre las dosis y semanas de tratamiento con clozapina. Se decidió realizar Rho de Spearman como prueba no paramétrica para determinar las correlaciones entre los resultados de citometría y los puntajes por subescala de la PANSS en los sujetos vírgenes/lavados al tratamiento.

Se encontró una relación inversa significativa que se considera fuerte entre los linfocitos B (B/ml) y el puntaje de la sub escala cognitiva de la PANSS ( $\rho = -.829$ ,  $p = .021$ ) en los sujetos vírgenes/lavados a tratamiento. Es decir, a menor concentración de linfocitos B (B/ml) mayor puntaje en la sub escala cognitiva de la PANSS.

**Correlación entre linfocitos B (células/ml) y gravedad de la subescala cognitiva de la PANSS**

		PANSS subescala cognitiva
Rho de Linfocitos B Spearman (células/ml)	Coefficiente de correlación Sig. (bilateral)	-.829* 0.021
	N	7

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

Se encontró otra relación inversa significativa entre el porcentaje de linfocitos T y el puntaje de gravedad de la PANSS total que también se considera fuerte ( $\rho = -.883$ ,  $p = .008$ ) en

los sujetos vírgenes/lavados a tratamiento. Es decir, a menor porcentaje de linfocitos mayor puntaje en la gravedad total del PANSS.

**Correlación entre el porcentaje de linfocitos T y gravedad de la PANSS total**

		PANSS total
Rho de Linfocitos	Coefficiente de correlación	-.883**
Spearman T (%)	Sig. (bilateral)	0.008
	N	7

\*\* . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

Otra relación inversa significativa fuerte se encontró entre el porcentaje de linfocitos Th con la gravedad total de la PANSS ( $\rho = -.757$ ,  $p = .049$ ) en los sujetos vírgenes/lavados a tratamiento. Es decir, a menor porcentaje de linfocitos Th mayor puntaje en la gravedad total del PANSS.

**Correlación entre el porcentaje de CD3+CD4+ con la gravedad total de la PANSS**

		PANSS total
Rho de Linfocitos Spearman CD3+CD4+ (%)	T Coeficiente de correlación	-.757*
	Sig. (bilateral)	.049
	N	7

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

Además, se encontró una correlación lineal significativa fuerte entre la sub escala de depresión de la PANSS y la concentración de células NK ( $\rho=.797$ ,  $p=.032$ ) en los sujetos vírgenes/lavados a tratamiento. Es decir, a mayor concentración de NK, mayor puntaje en la sub escala de depresión de la PANSS.

**Correlación entre las células NK con la gravedad de la sub escala de depresión de la PANSS**

	PANSS sub escala depresión
Rho de NK Spearman (células/ml) Coeficiente de correlación Sig. (bilateral) N	.797*  .032  7

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

Los linfocitos Tc fueron los únicos en los que se encontró correlación inversa tanto en número de células ( $\rho = -.778$ ,  $p = .039$ ) como en porcentaje ( $\rho = -.889$ ,  $p = .007$ ) con alguna variable clínica. Es decir, a menor número de células y porcentaje de linfocitos Tc mayor puntaje en la sub escala de excitabilidad de la PANSS.

**Correlación entre las células y porcentaje de linfocitos T con la gravedad de la subescala de excitabilidad de la PANSS**

	PANSS subescala excitabilidad
Rho de Linfocitos T Coeficiente de Spearman CD3+CD8+ correlación (células/ml) Sig. (bilateral) N	-.778* .039 7
Linfocitos T Coeficiente de CD3+CD8+ (%) correlación Sig. (bilateral) N	-.889** .007 7

\*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

\*\*.. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

## **DISCUSIÓN**

El presente proyecto de investigación comparó las variaciones en las subpoblaciones linfocitarias de T, B, NK y Mo entre pacientes con esquizofrenia vírgenes/lavados al tratamiento contra resistentes tratados con clozapina.

Las teorías inflamatorias de la esquizofrenia sugieren que las citocinas pueden influir y alterar en la neurotransmisión, el neurodesarrollo, neurodegeneración y en la actividad de las redes neurales y que estos podrían ser factores potenciales para inducir los síntomas psiquiátricos. Smith y Maes, propusieron la teoría de los macrófagos-linfocitos T en la que sugiere que la activación crónica de estas células produce IL-1, IL-2, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  que actúan como mediadores fundamentales en la esquizofrenia (Smith & Maes, 1995). Los niveles elevados de los marcadores inflamatorios en el suero de los pacientes con esquizofrenia podrían estar relacionados con el estado de la enfermedad, factores metabólicos y respuesta al tratamiento con antipsicóticos (O'Connell, Thakore, & Dev, 2014). Por lo que, estas investigaciones sugieren que el sistema inmunitario podría representar un potencial blanco de nuevos abordajes terapéuticos. Además, un ensayo reciente realizado por Sommer et al. (2011) mostró que la potenciación del tratamiento

antipsicótico con antiinflamatorios no esteroideos mejoró los síntomas en pacientes con esquizofrenia.

En las fortalezas de nuestro estudio se encuentran los criterios de inclusión y exclusión, ya que, con la finalidad de garantizar una adecuada evaluación del perfil inmunológico de la esquizofrenia, consideramos variables confusoras que pueden condicionar estados inflamatorios subclínicos (comorbilidades, IMC, tabaquismo, uso de otros fármacos, etc). Para los criterios de selección del presente estudio se consideraron las principales críticas realizadas a otros estudios similares en los que se intenta evaluar patrones inflamatorios, pero no excluyen a los sujetos con obesidad, debido a que es una comorbilidad frecuente en sujetos con esquizofrenia, y se asocia por sí misma a una inflamación subclínica. Además, es frecuente que la obesidad se relacione con el uso de antipsicóticos, que también por sí mismos pueden impactar en el estado inflamatorio del sujeto. Por lo tanto, es importante que los estudios incluyan a sujetos vírgenes al tratamiento, en primer episodio psicótico y con peso normal para entender mejor el rol de la inflamación en la esquizofrenia (Pandey, Ren, Rizavi, & Zhang, 2015). A nuestro conocimiento, este es el primer estudio realizado en población mexicana que cuenta con éstas características que permiten un

mejor entendimiento del rol del sistema inflamatorio en la patogénesis de la esquizofrenia.

Sin embargo, el tener criterios de selección tan específicos, con la finalidad de un mejor entendimiento del papel que juegan en la esquizofrenia las variables de estudio, resultó en la principal limitante debido a la dificultad de captar pacientes que no tengan alguna otra comorbilidad, porque se estima que hasta el 80% de los pacientes con esquizofrenia pueden padecer otra comorbilidad psiquiátrica u otras comorbilidades médicas (Jones, Mowry, Pender, & Greer, 2005). Al respecto, se sabe que la esquizofrenia se relaciona con reducción en la esperanza de vida, mayor proporción de enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes mellitus, hipertensión, tabaquismo y síndrome metabólico (O'Connell, Thakore, & Dev, 2014). Además, se ha descrito que tras un año de tratamiento con antipsicóticos en el primer episodio de esquizofrenia existen cambios clínicamente relevantes como ganancia ponderal y un aumento en los niveles de glucosa en ayunas en plasma. Sin embargo, el desarrollo de diabetes no está relacionado con la duración de tratamiento antipsicótico o con un fármaco antipsicótico específico. En pacientes con obesidad, los macrófagos del tejido adiposo están crónicamente en estado inflamatorio lo que produce un incremento en

citocinas proinflamatorias incluyendo ICAM-1, CCL2, CCL4, IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ , leptina y adiponectina. Con respecto a la dislipidemia, los niveles reducidos de HDL se correlacionan con un mayor estado inflamatorio de monocitos y macrófagos (Beumer et al., 2012).

Dentro la muestra captada para este estudio, se identificó a un sujeto del grupo de resistentes al tratamiento que padecía otras comorbilidades por trastorno obsesivo-compulsivo, hipertiroidismo y crisis convulsivas, pero se encontraban controladas, por lo que se decidió incluirlo en el estudio. En el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento, se identificó un sujeto con consumo de cannabis pero que se encontraba en remisión por seis meses, por lo que también se incluyó en el estudio.

Al considerar la edad en nuestra población, encontramos que la media de la edad en el grupo vírgenes/lavados fue de 38.86 años (D.E.= 13.23 años; rango 22-53 años) y en el grupo de resistentes, la media de la edad fue 29.43 años (D.E.= 6.47 años; rango 21-42 años). Es importante considerar la edad en este tipo de estudios porque la microglia puede adquirir un estado preactivado con el envejecimiento sin la presencia de un agente específico reconocido, lo que hace más propensas a estas células a reaccionar con mayor intensidad ante un

estímulo posterior (Luo, Ding, & Chen, 2010) (Ongradi & Kovesdi, 2010).

Sobre el consumo de tabaco evaluado con la escala FTND, sólo se documentó consumo en el grupo resistente y el puntaje promedio del grupo fue de 1.57 que equivale a dependencia a tabaco leve. En el grupo de vírgenes/lavados al tratamiento, ninguno tuvo consumo de tabaco. Un estudio realizado por de Witte y cols, reveló un incremento en los niveles de IL-18 en los sujetos fumadores con esquizofrenia (de Witte et al., 2014), por lo que se consideró controlar esta variable.

Dentro de las valoraciones antropométricas encontramos que en ninguno de los dos grupos la media del IMC fue indicador de obesidad. La media del IMC en el grupo vírgenes/lavados fue de 23.05 Kg/m<sup>2</sup> (D.E.= 4.9 Kg/m<sup>2</sup> 0; rango 18.40-31.22 Kg/m<sup>2</sup>) y sólo un sujeto se encontraba con un IMC mayor a 30 Kg/m<sup>2</sup>. En el grupo de resistentes, la media del IMC fue 25.55 Kg/m<sup>2</sup> (D.E.= 3.88 Kg/m<sup>2</sup>; rango 18.39-29.72 Kg/m<sup>2</sup>) y ningún sujeto tuvo un IMC que indique obesidad. Zhang et al. (2013), realizaron el primer estudio que, a su conocimiento, considera a sujetos sin otras comorbilidades y los compararon con sujetos sanos y encontraron un incremento en el TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL- $\beta$  que sugiere un incremento en el estado inflamatorio (Pandey, Ren, Rizavi, & Zhang, 2015), y no se encontró un estudio con estas mismas

características que considere células de la respuesta inmunológica.

Al realizar el análisis inferencial de las variables sociodemográficas, no se encontró diferencia significativa con la prueba de Chi-cuadrada ( $X^2$ ) de Pearson entre ambos grupos, pero debe considerarse el tamaño de la muestra como limitante para encontrar diferencias entre ambos grupos.

Dentro de las variables clínicas, el grupo vírgenes/lavados tuvo un puntaje más alto en la gravedad de la PANSS, la sub escala positiva, excitabilidad y depresión y obtuvieron puntajes promedio similares en la sub escala negativa. Se decidió realizar un análisis no paramétrico para identificar diferencias en las medias entre ambos grupos y sólo se encontró diferencia significativa con la prueba de U de Mann-Whitney en el puntaje total de la PANSS ( $p= 0.038$ ) y en la subescala cognitiva ( $p= 0.038$ ). Estos hallazgos deben ser tomados con reserva debido al tamaño de la muestra, pero puede estar relacionado con que se sabe que los signos neurológicos blandos y los defectos cognitivos frecuentemente preceden al inicio de la esquizofrenia en la edad adulta y estos podrían ser marcadores de un proceso del neurodesarrollo (Anderson & Maes, 2013).

Otra limitante es que sólo evaluamos determinadas variables inflamatorias que representan una pequeña porción de los factores inmunológicos y, seguramente, de los mecanismos involucrados con la génesis de la esquizofrenia. Además, de que las muestras obtenidas fueron tomadas de sangre periférica con la intención de minimizar los procedimientos invasivos en los sujetos que participaron en el estudio, pero sabemos que la esquizofrenia es una enfermedad que afecta el sistema nervioso central.

En los resultados obtenidos al analizar las proporciones celulares, el grupo de resistentes al tratamiento tuvo una media mayor en número de leucocitos, células B y T totales, porcentaje y número de linfocitos T citotóxicos, NK y monocitos. En el grupo vírgenes/lavados tuvo una media mayor en el número de células T cooperadoras. Pero, al realizar estadística inferencial, no hay diferencia significativa entre las medias de los grupos en ninguna de las proporciones celulares con pruebas no paramétricas, pero nuevamente consideramos que la muestra aún es pequeña para realizar estadística inferencial confiable y con alta potencia estadística. En general, los diferentes estudios que evalúan la inflamación en la esquizofrenia han tenido resultados heterogéneos y se ha considerado que probablemente sea asociado

al uso de muestras pequeñas, diferencias en los criterios de inclusión y exclusión, uso de diferentes y no estandarizadas plataformas de ensayo o técnicas citométricas y la variabilidad propia en las concentraciones de citocinas en la población normal (de Witte et al., 2014). También se sabe que hay un incremento en la prevalencia de los niveles alterados de citocinas en pacientes con esquizofrenia y en sus familiares de primer grado, lo que sugiere que las alteraciones en el sistema inmunitario pueden ser un endofenotipo del trastorno (Miller et al., 2011). Además, los marcadores de inflamación periférica pueden ser afectados por la edad, género, tabaquismo, peso y uso de antipsicóticos, el estado de salud, factores sociodemográficos, dieta y medicamentos (Pandey, Ren, Rizavi, & Zhang, 2015), que no se consideraron en este estudio, principalmente el género.

También se realizó un índice CD4+/CD8+ porque en los estudios longitudinales se destaca la relación CD4+/CD8+ porque disminuye después del tratamiento antipsicótico indicado en las exacerbaciones agudas de la psicosis, por lo que ha sido propuesto como un probable marcador de estado (Miller et al., 2011). En este estudio, la mediana del índice CD4+/CD8+ en el grupo vírgenes/lavados fue 1.79 (SD= 1.01) y los sujetos resistentes tuvieron una mediana de 1.51 (SD= 0.656), pero no se encontró diferencia significativa en las medianas entre

ambos grupos con pruebas no paramétricas también asociado a la limitante de tener una muestra pequeña.

Finalmente, se realizaron correlaciones entre las subpoblaciones linfocitarias y Mo con los diferentes puntajes obtenidos en las sub escalas de PANSS y con el puntaje total. Se decidió realizarlo únicamente en los sujetos vírgenes/lavados porque el grupo de clozapina es heterogéneo en cuanto a la dosis promedio de clozapina que tuvo una media fue de 132.14 mg, con un rango de 25 a 300 mg, y el tiempo promedio de tratamiento con clozapina que tuvo una media de 29.42 semanas con un rango de una a 72 semanas. Además, de que no se documentó un adecuado apego al tratamiento con la escala la escala MMAS-8 porque se obtuvo un puntaje promedio de 2.57 que se traduce como una adherencia media al tratamiento.

Dentro de las correlaciones entre las poblaciones celulares con la información clínica de la PANSS analizadas con Rho de Spearman por considerar los resultados no paramétricos, se encontraron cinco correlaciones inversas y una correlación lineal. En las correlaciones inversas se documentó que a menor concentración de linfocitos B (B/ml), mayor puntaje en la sub escala cognitiva de la PANSS ( $\rho = -.829$ ,  $p = .021$ ); a menor porcentaje de linfocitos (T/ml), mayor puntaje en la gravedad total del PANSS ( $\rho = -.883$ ,  $p = .008$ ); a menor

porcentaje de linfocitos Th mayor puntaje en la gravedad total del PANSS ( $\rho = -.757$ ,  $p = .049$ ); y a menor número de Tc/ml ( $\rho = -.778$ ,  $p = .039$ ) y porcentaje de Tc ( $\rho = -.889$ ,  $p = .007$ ) mayor puntaje en la sub escala de excitabilidad de la PANSS, que destaca por ser la única en la que se encontró la misma correlación clínica significativa con el número total de células y el porcentaje. La correlación lineal que se encontró fue que a mayor concentración de NK, mayor puntaje en la sub escala de depresión de la PANSS ( $\rho = .797$ ,  $p = .032$ ). Estos hallazgos deben ser tomados con reserva porque se intentó correlacionar un hallazgo químico con una variable clínica en una muestra pequeña. Además, los resultados son inconsistentes con un estudio clásico realizado por Cazullo et al (1998) en el que reportó un aumento de linfocitos Th, Tc en los pacientes con esquizofrenia en episodios agudos, que sugiere un predominio mayor de células T vírgenes al antígeno y concluyó que factores exógenos presentes en el cuerpo de los sujetos con esquizofrenia influyen en la expansión de las poblaciones Th y Tc y en la reducción en el número de células de memoria CD45RA- (Cazullo et al., 1998). Sobre la correlación directa entre las NK y la sub escala de depresión de la PANSS no existen estudios que apoyen este hallazgo y la información más consistente en relación con los NK es contrastante con lo encontrado el que los niveles absolutos de NK (CD56+) aumentan

significativamente después del tratamiento antipsicótico secundario a recaída de la enfermedad, por lo que han sido considerados como un probable marcador de rasgo (Miller et al., 2011). Finalmente, destaca que no se encontró alguna correlación con Mo, y también se ha reportado un incremento en el número de Mo durante los episodios de exacerbación de síntomas psicóticos en veteranos con esquizofrenia que correlacionaron con el puntaje de la PANSS (Dimitrov et al., 2013). A pesar de las limitaciones, destaca la potencia estadística de las correlaciones que pueden indicar alguna tendencia en los resultados, por lo que es necesario incrementar el número de muestra para evaluar el comportamiento real de estas variables.

Sobre las proyecciones a futuro, que pretenden mejorar las limitaciones encontradas, se dará continuidad al proyecto motivo de esta tesis durante un periodo estimado a tres años con la finalidad de obtener una muestra mayor en la que se pueda realizar estadística inferencial que arroje resultados confiables y con mayor potencia estadística.

Cabe destacar que, además de las limitantes para captar sujetos que cumplieran con criterios de selección específicos, la captación se realizó en un periodo breve de tiempo

considerando los objetivos planteados, debido a que este proyecto surgió como una nueva línea de investigación con motivo de esta tesis de especialidad y nos enfrentamos a todo el proceso que implica iniciar una investigación, como conseguir la colaboración por parte del laboratorio de psicoimmunología del INPRF para el análisis de los componentes inmunitarios, aprobación por el comité de ética e investigación del protocolo y posterior subsidio del estudio. Por lo que, se espera que la captación sea más eficiente, ahora que están resueltas éstas limitaciones iniciales.

## **CONCLUSIONES**

En este estudio no se encontró diferencia significativa en ninguna de las subpoblaciones linfocitarias y Mo estudiadas entre sujetos vírgenes/lavados y resistentes al tratamiento. Sin embargo, en los sujetos vírgenes/lavados se encontraron cinco relaciones inversas y una relación lineal significativas estadísticamente, pero de baja confiabilidad por el tamaño de muestra.

Concluimos que es necesario incrementar el número de muestra para un mejor entendimiento de las variables motivo de estudio, para realizar estadística inferencial con resultados confiables y para evaluar si continúa la misma tendencia en las correlaciones encontradas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Adell, A., Jimenez-Sanchez, L., Lopez-Gil, X., & Romon, T. (2012). Is the acute NMDA receptor hypofunction a valid model of schizophrenia? *Schizophr Bull*, 38(1), 9-14. doi:10.1093/schbul/sbr133
2. American Psychiatric Association. (2000). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (American Psychiatric Association Ed. Fourth ed., Text Revision.). Washington, DC: American Psychiatric Association.
3. American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders* (American Psychiatric Association Ed. Fifth ed.). Arlington, VA: American Psychiatric Association.
4. Anderson, G., & Maes, M. (2013). Schizophrenia: linking prenatal infection to cytokines, the tryptophan catabolite (TRYCAT) pathway, NMDA receptor hypofunction, neurodevelopment and neuroprogression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 42, 5-19. doi:10.1016/j.pnpbp.2012.06.014
5. Andreasen, N. (1984). The scale for the assessment of positive symptoms (SAPS) University of Iowa. *Iowa City, IA*.
6. Appay, V., van Lier, R. A., Sallusto, F., & Roederer, M. (2008). Phenotype and function of human T lymphocyte subsets: consensus and issues. *Cytometry A*, 73(11), 975-983. doi:10.1002/cyto.a.20643
7. Benros, M. E., Mortensen, P. B., & Eaton, W. W. (2012). Autoimmune diseases and infections as risk factors for schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1262(1), 56-66. doi:0.1111/j.1749-6632.2012.06638.x
8. Bessis, A., Bechade, C., Bernard, D., & Roumier, A. (2007). Microglial control of neuronal death and synaptic properties. *Glia*, 55(3), 233-238. doi:10.1002/glia.20459
9. Beumer, W., Drexhage, R. C., De Wit, H., Versnel, M. A., Drexhage, H. A., & Cohen, D. (2012). Increased level of serum cytokines, chemokines and adipokines in patients with schizophrenia is associated with disease and

- metabolic syndrome. *Psychoneuroendocrinology*, 37(12), 1901-1911. doi:10.1016/j.psyneuen.2012.04.001
10. Bruce, L. C., & Peebles, A. (1904). Quantitative and qualitative leucocyte counts in various forms of mental disease. *The British Journal of Psychiatry*, 50(210), 409-417.
  11. Burgy, M. (2008). The concept of psychosis: historical and phenomenological aspects. *Schizophr Bull*, 34(6), 1200-1210. doi:10.1093/schbul/sbm136
  12. Bush, G., Petrides, G., & Francis, A. (1997). Catatonia and other motor syndromes in a chronically hospitalized psychiatric population. *Schizophr Res*, 27(1), 83-92. doi:10.1016/S0920-9964(97)00084-4
  13. Cazzullo, C. L., Saresella, M., Roda, K., Calvo, M. G., Bertrando, P., Doria, S., ..., Ferrante, P. (1998). Increased levels of CD8+ and CD4+ 45RA+ lymphocytes in schizophrenic patients. *Schizophr Res*, 31(1), 49-55. doi:10.1016/S0920-9964(97)00153-9
  14. Cepok, S., Rosche, B., Grummel, V., Vogel, F., Zhou, D., Sayn, J., ..., Hemmer, B. (2005). Short-lived plasma blasts are the main B cell effector subset during the course of multiple sclerosis. *Brain*, 128(Pt 7), 1667-1676. doi:10.1093/brain/awh486
  15. Cepok, S., von Geldern, G., Grummel, V., Hochgesand, S., Celik, H., Hartung, H., & Hemmer, B. (2006). Accumulation of class switched IgD-IgM- memory B cells in the cerebrospinal fluid during neuroinflammation. *J Neuroimmunol*, 180(1-2), 33-39. doi:10.1016/j.jneuroim.2006.06.031
  16. Coyle, J. T. (1996). The glutamatergic dysfunction hypothesis for schizophrenia. *Harv Rev Psychiatry*, 3(5), 241-253. doi:10.3109/10673229609017192
  17. Dantzer, R., Wollman, E. E., Vitkovic, L., & Yirmiya, R. (1999). Cytokines, stress, and depression *Cytokines, Stress, and Depression* (pp. 317-329): Springer.
  18. de Witte, L., Tomasik, J., Schwarz, E., Guest, P. C., Rahmoune, H., Kahn, R. S., & Bahn, S. (2014). Cytokine alterations in first-episode schizophrenia patients

- before and after antipsychotic treatment. *Schizophr Res*, 154(1-3), 23-29. doi:10.1016/j.schres.2014.02.005
19. Denicoff, K. D., Rubinow, D. R., Papa, M. Z., Simpson, C., Seipp, C. A., Lotze, M. T., ..., Rosenberg, S. A. (1987). The neuropsychiatric effects of treatment with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *Ann Intern Med*, 107(3), 293-300. doi:10.7326/0003-4819-107-2-293
  20. Dieset, I., Hope, S., Ueland, T., Bjella, T., Agartz, I., Melle, I., ..., Andreassen, O. A. (2012). Cardiovascular risk factors during second generation antipsychotic treatment are associated with increased C-reactive protein. *Schizophr Res*, 140(1-3), 169-174. doi:10.1016/j.schres.2012.06.040
  21. Dimitrov, D. H., Lee, S., Yantis, J., Valdez, C., Paredes, R. M., Braida, N., ..., Walss-Bass, C. (2013). Differential correlations between inflammatory cytokines and psychopathology in veterans with schizophrenia: potential role for IL-17 pathway. *Schizophr Res*, 151(1-3), 29-35. doi:10.1016/j.schres.2013.10.019
  22. Dugast, A. S., & Vanhove, B. (2009). Immune regulation by non-lymphoid cells in transplantation. *Clin Exp Immunol*, 156(1), 25-34. doi:10.1111/j.1365-2249.2009.03877.x
  23. Fan, X., Goff, D. C., & Henderson, D. C. (2007). Inflammation and schizophrenia. *Expert Rev Neurother*, 7(7), 789-796. doi:10.1586/14737175.7.7.789
  24. Fiuza, J. A., Fujiwara, R. T., Gomes, J. A., Rocha, M. O., Chaves, A. T., de Araujo, F. F., ..., Correa-Oliveira, R. (2009). Profile of central and effector memory T cells in the progression of chronic human chagas disease. *PLoS Negl Trop Dis*, 3(9), e512. doi:10.1371/journal.pntd.0000512
  25. Glass, C. K., Saijo, K., Winner, B., Marchetto, M. C., & Gage, F. H. (2010). Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell*, 140(6), 918-934. doi:10.1016/j.cell.2010.02.016

26. Heatherton, T. F., Kozlowski, L. T., Frecker, R. C., & Fagerstrom, K. O. (1991). The Fagerstrom Test for Nicotine Dependence: a revision of the Fagerstrom Tolerance Questionnaire. *Br J Addict*, 86(9), 1119-1127. doi:10.1111/j.1360-0443.1991.tb01879.x
27. Javitt, D. C. (2010). Glutamatergic theories of schizophrenia. *Isr J Psychiatry Relat Sci*, 47(1), 4-16.
28. Jones, A. L., Mowry, B. J., Pender, M. P., & Greer, J. M. (2005). Immune dysregulation and self-reactivity in schizophrenia: do some cases of schizophrenia have an autoimmune basis? *Immunol Cell Biol*, 83(1), 9-17. doi:10.1111/j.1440-1711.2005.01305.x
29. Kato, T. A., Monji, A., Mizoguchi, Y., Hashioka, S., Horikawa, H., Seki, Y., ..., Kanba, S. (2011). Anti-Inflammatory properties of antipsychotics via microglia modulations: are antipsychotics a 'fire extinguisher' in the brain of schizophrenia? *Mini Rev Med Chem*, 11(7), 565-574. doi:10.2174/1389557111795906941
30. Lafon, M., Megret, F., Lafage, M., & Prehaud, C. (2006). The innate immune facet of brain: human neurons express TLR-3 and sense viral dsRNA. *J Mol Neurosci*, 29(3), 185-194. doi:10.1385/JMN:29:3:185
31. Lehmann-Facius, H. (1939). Serologisch-analytische Versuche mit Liquores und Seren von Schizophrenen. *Allg Z Psychiatrie*, 110, 232-243.
32. Li, H., Zhang, Q., Li, N., Wang, F., Xiang, H., Zhang, Z., ..., Hong, W. (2016). Plasma levels of Th17-related cytokines and complement C3 correlated with aggressive behavior in patients with schizophrenia. *Psychiatry Res*, 246, 700-706. doi:10.1016/j.psychres.2016.10.061
33. Lin, A., Kenis, G., Bignotti, S., Tura, G. J., De Jong, R., Bosmans, E., ..., Maes, M. (1998). The inflammatory response system in treatment-resistant schizophrenia: increased serum interleukin-6. *Schizophr Res*, 32(1), 9-15. doi:10.1016/S0920-9964(98)00034-6
34. Lindenmayer, J. P., Harvey, P. D., Khan, A., & Kirkpatrick, B. (2007). Schizophrenia: measurements of

- psychopathology. *Psychiatr Clin North Am*, 30(3), 339-363. doi:10.1016/j.psc.2007.04.005
35. Luo, X. G., Ding, J. Q., & Chen, S. D. (2010). Microglia in the aging brain: relevance to neurodegeneration. *Mol Neurodegener*, 5(1), 12. doi:10.1186/1750-1326-5-12
36. Manterola-Cornejo, S., Soto-Hernández, J., Campillo, C., Colín, R., López-Meza, E., & Ramírez-Bermúdez, J. (2005). Trastornos neuropsiquiátricos en pacientes con encefalitis viral. *Archivos de Neurociencias*, 10(4), 245-249.
37. Maudsley, H. (1879). *Pathology of the Mind*: London, New York, Macmillan.
38. Miller, B. J., Buckley, P., Seabolt, W., Mellor, A., & Kirkpatrick, B. (2011). Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry*, 70(7), 663-671. doi:10.1016/j.biopsych.2011.04.013
39. Moncrieff, J. (2009). A critique of the dopamine hypothesis of schizophrenia and psychosis. *Harv Rev Psychiatry*, 17(3), 214-225. doi:10.1080/10673220902979896
40. Monji, A., Kato, T., & Kanba, S. (2009). Cytokines and schizophrenia: Microglia hypothesis of schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*, 63(3), 257-265. doi:10.1111/j.1440-1819.2009.01945.x
41. Morisky, D. E., Green, L. W., & Levine, D. M. (1986). Concurrent and predictive validity of a self-reported measure of medication adherence. *Med Care*, 24(1), 67-74.
42. Muller, N. (2008). Inflammation and the glutamate system in schizophrenia: implications for therapeutic targets and drug development. *Expert Opin Ther Targets*, 12(12), 1497-1507. doi:10.1517/14728220802507852
43. Naudin, J., Capo, C., Giusano, B., Mege, J. L., & Azorin, J. M. (1997). A differential role for interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in schizophrenia? *Schizophr Res*, 26(2-3), 227-233. doi:10.1016/S0920-9964(97)00059-5

44. O'Connell, K. E., Thakore, J., & Dev, K. K. (2014). Pro-inflammatory cytokine levels are raised in female schizophrenia patients treated with clozapine. *Schizophr Res*, 156(1), 1-8. doi:10.1016/j.schres.2014.03.020
45. Ongradi, J., & Kovesdi, V. (2010). Factors that may impact on immunosenescence: an appraisal. *Immun Ageing*, 7(1), 7. doi:10.1186/1742-4933-7-7
46. Pachter, J. S., de Vries, H. E., & Fabry, Z. (2003). The blood-brain barrier and its role in immune privilege in the central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol*, 62(6), 593-604. doi:10.1093/jnen/62.6.593
47. Pandey, G. N., Ren, X., Rizavi, H. S., & Zhang, H. (2015). Proinflammatory cytokines and their membrane-bound receptors are altered in the lymphocytes of schizophrenia patients. *Schizophr Res*, 164(1-3), 193-198. doi:10.1016/j.schres.2015.02.004
48. Potvin, S., Stip, E., Sepehry, A. A., Gendron, A., Bah, R., & Kouassi, E. (2008). Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry*, 63(8), 801-808. doi:10.1016/j.biopsych.2007.09.024
49. Rempel, J. D., Quina, L. A., Blakely-Gonzales, P. K., Buchmeier, M. J., & Gruol, D. L. (2005). Viral induction of central nervous system innate immune responses. *J Virol*, 79(7), 4369-4381. doi:10.1128/JVI.79.7.4369-4381.2005
50. Schmitt, N., & Ueno, H. (2015). Regulation of human helper T cell subset differentiation by cytokines. *Curr Opin Immunol*, 34, 130-136. doi:10.1016/j.coi.2015.03.007
51. Schwarz, M. J., Muller, N., Riedel, M., & Ackenheil, M. (2001). The Th2-hypothesis of schizophrenia: a strategy to identify a subgroup of schizophrenia caused by immune mechanisms. *Med Hypotheses*, 56(4), 483-486. doi:10.1054/mehy.2000.1203
52. Sedvall, G. (1990). Monoamines and schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 358(S358), 7-13. doi:10.1111/j.1600-0447.1990.tb05279.x

53. Sen, J., & Belli, A. (2007). S100B in neuropathologic states: the CRP of the brain? *J Neurosci Res*, *85*(7), 1373-1380. doi:10.1002/jnr.21211
54. Smith, R. S., & Maes, M. (1995). The macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia: additional evidence. *Med Hypotheses*, *45*(2), 135-141. doi:10.1016/0306-9877(95)90062-4
55. Sokolowski, J. D., & Mandell, J. W. (2011). Phagocytic clearance in neurodegeneration. *Am J Pathol*, *178*(4), 1416-1428. doi:10.1016/j.ajpath.2010.12.051
56. Steiner, J., Biela, H., Brisch, R., Danos, P., Ullrich, O., Mawrin, C., ..., Bogerts, B. (2008). Immunological aspects in the neurobiology of suicide: elevated microglial density in schizophrenia and depression is associated with suicide. *J Psychiatr Res*, *42*(2), 151-157. doi:10.1016/j.jpsychires.2006.10.013
57. Takano, A., Arakawa, R., Ito, H., Tateno, A., Takahashi, H., Matsumoto, R., ..., Suhara, T. (2010). Peripheral benzodiazepine receptors in patients with chronic schizophrenia: a PET study with [11C]DAA1106. *Int J Neuropsychopharmacol*, *13*(7), 943-950. doi:10.1017/S1461145710000313
58. Town, T., Nikolic, V., & Tan, J. (2005). The microglial "activation" continuum: from innate to adaptive responses. *J Neuroinflammation*, *2*(1), 24. doi:10.1186/1742-2094-2-24
59. World Health Organization. (1992). The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: Clinical descriptions and diagnostic guidelines (World Health Organization Ed.). Geneva: World Health Organization.
60. Zhang, X. Y., Xiu, M. H., Song, C., Chen, D. C., Wu, G. Y., Haile, C. N., ..., Kosten, T. R. (2010). Increased serum S100B in never-medicated and medicated schizophrenic patients. *J Psychiatr Res*, *44*(16), 1236-1240. doi:10.1016/j.jpsychires.2010.04.023

## ANEXOS

### ANEXO I

## **CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA EN EL ESTUDIO: DIFERENCIA EN LAS PROPORCIONES LINFOCITARIAS ENTRE PACIENTES CON ESQUIZOFRENIA RESISTENTES Y VÍRGENES AL TRATAMIENTO**

**Dra. Nancy Esthela García Gómez**

Nombre del participante:

---

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase en absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento.

#### **Justificación del estudio:**

Las alteraciones neuroinmunológicas en la esquizofrenia representan un importante modelo de investigación para el conocimiento de los aspectos neurobiológicos implicados durante su patogenia, con la finalidad de aplicar el conocimiento obtenido en el diseño de mejores estrategias terapéuticas para los pacientes.

#### **Colaboración:**

Su obtendrán dos tomas de muestra por personal médico capacitado del INPRF, y se extraerán aproximadamente 10 mL al inicio del estudio y a las 20 semanas de tratamiento, los cuales no alteran la homeostasis, ni ponen en riesgo al paciente, que serán utilizados para la medición de las variables motivo del estudio.

#### **Aclaraciones:**

- ♦ Su participación en el estudio consiste en que ciertos datos de su expediente clínico se recabarán y se analizarán junto con los datos de otros pacientes que participen en la investigación.
- ♦ Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- ♦ No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- ♦ Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- ♦ No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio y no obtendrá consecuencias negativas en la calidad de la atención médica.
- ♦ No recibirá pago por su participación.

- ♦ La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- ♦ Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado.

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Estoy de acuerdo en participar en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_

Firma del participante o del padre o tutor

\_\_\_\_\_

Fecha

\_\_\_\_\_

Firma del investigador

\_\_\_\_\_

Fecha

## ANEXO II

### ESCALA DE SINTOMAS POSITIVOS Y NEGATIVOS PARA LA ESQUIZOFRENIA PANSS

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Instrucciones: Marque con un círculo la evaluación apropiada para cada ítem de la entrevista clínica que se especifica a continuación. Consulte el manual de evaluación para las definiciones de los ítems, la descripción de los puntos concretos y el procedimiento para la puntuación.

1 = ausente; 2 = mínimo; 3 = leve; 4 = moderado; 5 = moderadamente severo; 6 = severo; 7 = extremo.

#### 1) SUBESCALA POSITIVA

P1	Delirios	1	2	3	4	5	6
7							
P3	Conducta alucinatoria	1	2	3	4	5	6
7							
P5	Grandiosidad	1	2	3	4	5	6
7							
P6	Susplicacia/persecución	1	2	3	4	5	6
7							
N7	Pensamiento estereotipado	1	2	3	4	5	6
7							
G1	Preocupación Somática	1	2	3	4	5	6
7							
G9	Contenidos de pensamientos inusuales	1	2	3	4	5	6
7							
G12	Falta de juicio y discernimiento	1	2	3	4	5	6
7							

#### 2) SUBESCALA NEGATIVA

N1	Afecto adormecido o embotado	1	2	3	4	5	6
7							
N2	Retirada emocional	1	2	3	4	5	6
7							
N3	Empatía limitada	1	2	3	4	5	6
7							
N4	Retirada social apática/pasiva	1	2	3	4	5	6
7							
N6	Dificultad para la conversación fluida	1	2	3	4	5	6
7							
G7	Retraso motor	1	2	3	4	5	6
7							
G16	Evitación social activa	1	2	3	4	5	6
7							

#### 3) SUBESCALA COGNITIVA

P2	Desorganización conceptual	1	2	3	4	5	6
7							
N5	Dificultad para pensar en abstracto	1	2	3	4	5	6
7							
G5	Manerismo y actitud postural	1	2	3	4	5	6
7							
G11	Atención deficiente	1	2	3	4	5	6
7							
G13	Alteración de la voluntad	1	2	3	4	5	6
7							
G15	Preocupación	1	2	3	4	5	6
7							
G10	Desorientación	1	2	3	4	5	6
7							

4) SUBESCALA DE EXCITABILIDAD

P4	Excitación	1	2	3	4	5	6
7							
P7	Hostilidad	1	2	3	4	5	6
7							
G8	Falta de cooperación	1	2	3	4	5	6
7							
G14	Deficiente control de los impulsos	1	2	3	4	5	6
7							

5) SUBESCALA DE ANSIEDAD/DEPRESION

G2	Ansiedad	1	2	3	4	5	6
7							
G3	Sentimiento de culpabilidad	1	2	3	4	5	6
7							
G4	Tensión	1	2	3	4	5	6
7							
G6	Depresión	1	2	3	4	5	6
7							

ESCALA	TOTAL	PERCENTIL
Positiva	_____	_____
Negativa	_____	_____
Cognitiva	_____	_____
Excitabilidad	_____	_____
Ansiedad/Depresión	_____	_____
TOTAL	_____	_____

**ANEXO III**

**TEST DE FAGERSTRÖM DE DEPENDENCIA A NICOTINA**

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

	Pregunta	Respuesta	Puntaje
1	¿Cuánto tarda en fumar su primer cigarrillo después de despertarse?	5 min	3
		6-30 min	2
		31-60 min	1
		Más de 60 min	0
2	¿Encuentra difícil abstenerse de fumar en sitios donde está prohibido?	Sí	1
		No	0
3	¿A qué cigarrillo odiaría más renunciar?	El primero de la mañana	1
		Cualquier otro	0
4	¿Cuántos cigarrillos fuma al día?	<10	0
		11-20	1
		21-30	2
		>31	3
5	¿Fuma más frecuentemente durante las primeras horas después de despertarse que	Sí	1
		No	0

	durante el resto del día?		
6	¿Fuma cuando está tan enfermo que pasa en la cama la mayor parte del día?	Sí No	1 0

Puntaje total	
---------------	--

**PUNTAJE:**

- 0 - 2 Dependencia    **MUY BAJA**
- 3 - 4 Dependencia    **BAJA.**
- 5 Dependencia    **MODERADA.**
- 6 - 7 Dependencia    **ALTA.**
- 8 - 10 Dependencia    **MUY ALTA.**

**ANEXO IV**

**ESCALA DE ADHERENCIA A LA MEDICACIÓN MORISKY 8 (MMAS-8 ITEMS)**

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Pregunta	SI/NO	S=1 N=0
1. ¿Algunas veces olvida tomar sus medicamentos?		
2. La gente a veces se olvida de tomar sus medicamentos por otras razones que no sea olvidarlo. Pensando en las últimas dos semanas, ¿Hay días en los que no tomó sus medicamentos?		
3. ¿Alguna vez ha disminuido o dejado de tomar sus medicamentos sin antes consultar con su médico, ya que se sintió peor cuando lo tomó?		
4. ¿Cuándo viaja o no está en casa, algunas veces olvida llevar sus medicamentos?		
5. ¿Tomo el día de ayer sus medicamentos?		
6. ¿Cuándo siente que sus síntomas están bajo control, algunas veces deja de tomar sus medicamentos?		
7. Tomar el medicamento todos los días es realmente inconveniente para algunas personas. ¿Alguna vez se sintió fastidiado de apegarse a su plan de tratamiento?		
8. ¿Cada cuándo tiene dificultad para recordar tomar todos sus medicamentos?  A. Nunca/rara vez      -----  B. De vez en cuando      -----  C. Algunas veces      -----  D. Usualmente      -----  E. Todo el tiempo      -----		A=0  B-E= 1

Puntaje:

$\geq 2$  = baja adherencia

1 o 2 = adherencia media

0 = alta adherencia

**ANEXO V**

**FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

Fecha:

Clave numérica:

<b>Datos demográficos del participante</b>	
Nombre:	No. de Expediente:
Edad:	Sexo: Estado civil:
Fecha y lugar de nacimiento:	Nivel económico:
Dirección:	
Teléfono Casa:	Correo electrónico:
Celular:	
Fecha de ingreso al proyecto:	
Fecha de toma de muestra: actual:	Semanas con tratamiento
Observaciones:	

<b>Datos del diagnóstico del participante</b>	
Diagnóstico del participante:	Fecha de diagnóstico:
Presencia de resistencia al fármaco    SI NO	Dosis:
Nombre del fármaco al que presentó resistencia:	
Fecha de cambio de tratamiento farmacológico:	Dosis:
Nombre del fármaco actual:	
Otros fármacos	
Nombre:	Dosis:                      Tiempo consumiendo el fármaco:
Nombre:	Dosis:                      Tiempo consumiendo el fármaco:

Diagnóstico de comorbilidad:	Fecha de diagnóstico:
Observaciones:	

Datos clínicos del participante	
Peso: Kg	Cintura: cm
Talla: m	Cadera: cm
IMC:	Relación cintura-cadera:
Fecha de última menstruación:	
Escala aplicada al ingreso del proyecto	
Escala de síntomas positivos y negativos (PANSS)	
Escala de Bush y Francis para catatonía (B&FCRS)	
Test de Fagerström de dependencia a nicotina (FTND)	
Otra:	
Observaciones:	

Puntajes de escala PANSS				
Fecha	Puntaje total	Puntaje síntomas positivos	Puntaje síntomas negativos	% de mejoría

Dr(a). \_\_\_\_\_

Tratante