

T
339

88948



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN
INVESTIGACIÓN BIOFARMACÉUTICA

**ANÁLISIS GENÉTICO DEL LOCUS *CYP2D6* EN
PACIENTES CON DEPRESIÓN Y SU CORRELACIÓN CON EL
METABOLISMO DE ANTIDEPRESIVOS**

**COMUNICACIÓN IDÓNEA DE RESULTADOS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS
P R E S E N T A
JUAN MANUEL CEDILLO VÁZQUEZ**

MATRÍCULA: 201180910

COMITÉ TUTORIAL:

TUTOR: DRA. MARISOL LÓPEZ LÓPEZ

ASESOR: DRA. HELGI JUNG COOK

ASESOR: DRA. ELISA ALONSO VILATELA



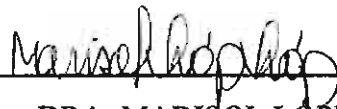
MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2003

COMITÉ TUTORIAL

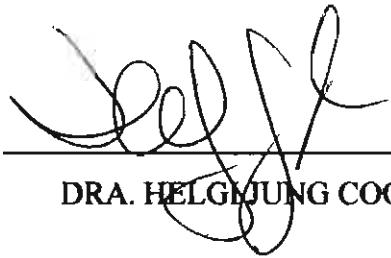
Vo. Bo.

TUTOR



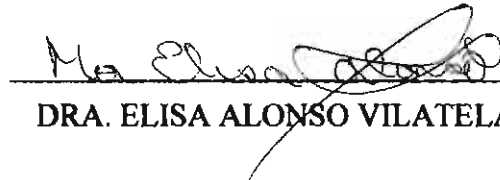
DRA. MARISOL LÓPEZ LÓPEZ

ASESOR



DRA. HELGIJUNG COOK

ASESOR



DRA. ELISA ALONSO VILATELA

SUSTENTANTE



Q.F.B. JUAN MANUEL CEDILLO VÁZQUEZ

JURADO ASIGNADO SEGÚN EL TEMA

Presidente:	Dra. Teresa Corona Vázquez
Vocal:	M. en F. Liz Jannet Medina Reyes
Secretaria:	Dra. Marisol López López
Comisión de la Maestría:	Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda

**ESTE TRABAJO SE DESARROLLÓ EN EL DEPARTAMENTO
DE NEUROGENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DEL
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y
NEUROCIRUGÍA “MANUEL VELASCO SUÁREZ”**

MÉXICO, D.F.

Trabajo apoyado por

CONACYT

PROYECTO No.:

3 7 1 0 3 - M

AGRADECIMIENTOS

Gracias, a Dios por permitir seguir adelante y guiarme por el camino correcto.

Gracias, a la Dra. Marisol López López, Dra. Helgi Jung Cook, y a la Dra. Elisa Alonso Vilatela, por darme la oportunidad y los consejos necesarios para continuar en esta profesión y valorar los esfuerzos que día a día me llevaron a culminar una meta más en mi vida.

Gracias, a mi esposa Erika por ser una persona que me demuestra cada día su amor y apoyo, por su comprensión y confianza pero sobre todo por su ímpetu y paciencia para que Yo salga adelante. Una vez más le doy gracias a Dios por permitirme estar a tu lado. Te amo mucho amor.

Gracias, a mi hijo que viene en camino, Ángel Tonatíuh, por que Dios lo puso en nuestras vidas y es inspiración para seguir siempre adelante.

Gracias, a mi mamá por darme la vida, su amor y cariño. A mis hermanos por que he aprendido mucho de ellos. A mi familia que siempre me ha apoyado en todas mis decisiones.

Gracias, a mis amigos de la Maestría por compartir momentos de angustia, de alegría, de felicidad y de gran amistad que nos unió a lo largo de esta etapa. Gracias Daniel, gracias Miguel.

Gracias, a todos los del laboratorio de genética por darnos la oportunidad de conocerlos y pasar ratos agradables. Gracias Jorge, Lety, Chayito, Adriana, Aurelio, Petra, Conchita y Don Gabino.

Gracias, a mi tía Yema, a mi madre Virgen y a mi papá (q.e.p.d) por guiarme y velarme todos los días.

Gracias, a los maestros de la maestría que nos dieron las bases para seguir adelante en esta profesión.

Gracias, al jurado evaluador que formó parte de este trabajo.

Gracias, a la UAM-X y al Instituto de Neurología que nos abrió las puertas para la realización de esta tesis.

Gracias, a todas aquellas personas que de alguna manera formaron parte de este trabajo y que me faltaron por nombrar.

ÍNDICE

	Pág.
I. RESUMEN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	
2.1 FARMACOGENÉTICA.....	2
2.2 FARMACOGENÓMICA.....	3
2.3 ENZIMAS METABOLIZADORAS DE FÁRMACOS.....	4
2.4 CITOCROMO P450.....	5
2.4.1 Funciones que cumplen los citocromos P450.....	8
2.4.2 Mecanismo de acción del citocromo P450.....	8
2.5 POLIMORFISMO GENÉTICO <i>CYP2D6</i>.....	10
2.6 DEPRESIÓN	
2.6.1 Antecedentes históricos.....	14
2.6.2 Generalidades.....	15
2.6.3 Definición.....	16
2.6.4 Clasificación.....	18
2.6.4.1 Trastorno depresivo mayor con características melancólicas.....	18
2.6.4.2 Trastorno depresivo mayor estacional.....	18
2.6.4.3 Trastorno depresivo mayor con características catatónicas.....	18
2.6.4.4 Trastorno depresivo mayor con características atípicas.....	19
2.6.4.5 Depresión geriátrica.....	19
2.6.4.6 Trastorno distímico.....	19
2.6.4.7 Trastorno disfórico premenstrual.....	19

	Pág.
2.6.4.8 Depresión breve recurrente.....	20
2.6.4.9 Depresión psicótica.....	20
2.6.4.10 Depresión secundaria.....	20
2.6.5 Neurotransmisores y receptores.....	22
2.6.6 Factores asociados a la enfermedad	
2.6.6.1 Genéticos.....	24
2.6.6.2 Psicosociales.....	24
2.6.6.3 Grupos de riesgo.....	25
2.6.6.4 Manifestaciones clínicas de la enfermedad depresiva.....	25
2.6.6.5 Comorbilidad.....	27
2.7 ANTIDEPRESIVOS TRICÍCLICOS (ADTs)	
2.7.1 Generalidades.....	27
2.7.2 Historia.....	28
2.7.3 Metabolismo.....	29
2.7.4 Mecanismo de acción.....	30
2.7.5 Variabilidad interindividual.....	33
2.7.6 Reacciones adversas.....	35
2.7.6.1 Sistema Nervioso Central.....	35
2.7.6.2 Sistema Nervioso Autónomo.....	35
2.7.6.3 Sistema Cardiovascular.....	35
2.7.6.4 Efectos anticolinérgicos.....	36
2.7.6.5 Disfunción sexual.....	36
2.7.6.6 Efectos neurológicos.....	36
2.7.6.7 Delirium por antidepresivos tricíclicos.....	36

	Pág.
2.7.6.8 Síntomas de abstinencia.....	36
2.7.7 Interacciones medicamentosas.....	36
2.7.8 Farmacología de los antidepresivos tricíclicos	
2.7.8.1 Imipramina.....	38
2.7.8.2 Clomipramina.....	38
2.7.8.3 Amoxapina.....	39
2.7.8.4 Maprotilina.....	39
2.7.9 Farmacología de los Inhibidores Selectivos en la Recaptura de Serotonina	
2.7.9.1 Citalopram.....	39
2.7.9.2 Venlafaxina.....	40
2.7.9.3 Mianserina.....	40
2.7.9.4 Reboxetina.....	40
2.7.9.5 Fluoxetina.....	41
2.7.9.6 Sertralina.....	42
2.7.9.7 Fluvoxamina.....	43
2.7.9.8 Paroxetina.....	43
2.8 TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR.....	43
2.8.1 Purificación de ácidos nucleicos.....	44
2.8.2 Cuantificación de ácidos nucleicos.....	44
2.8.3 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	45
2.8.4 Enzimas de restricción.....	46
2.8.5 Electroforesis.....	46

	Pág.
III. OBJETIVOS	
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	48
3.2 OBJETIVO PARTICULAR.....	48
IV. JUSTIFICACIÓN.....	49
V. MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1 CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	50
5.1.1 Criterios de inclusión.....	50
5.1.2 Criterios de exclusión.....	50
5.2 DETERMINACIÓN DEL POLIMORFISMO *3 Y *4 DEL GEN <i>CYP2D6</i>	50
5.2.1 Toma de muestra de sangre periférica.....	51
5.2.2 Extracción de ADN genómico.....	51
5.2.2.1 Equipo.....	52
5.2.2.2 Reactivos.....	53
5.2.3 Análisis espectrofotométrico y electroforético de ADN.....	53
5.2.4 Genotipificación de <i>CYP2D6</i>	54
5.2.5 Análisis de genotipos de <i>CYP2D6</i> *3 y <i>CYP2D6</i> *4.....	57
VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	
6.1 TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	58
6.2 EXTRACCIÓN DEL ADN GENÓMICO.....	58
6.3 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).....	58
6.4 RESTRICCIÓN ENZIMÁTICA (RFLP).....	59
6.5 FRECUENCIAS GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS.....	60
VII. CONCLUSIONES.....	64

	Pág.
VIII. GLOSARIO.....	65
IX. ANEXOS	
9.1 ANEXO No. 1.....	67
9.2 ANEXO No. 2.....	71
9.3 ANEXO No. 3.....	74
X. BIBLIOGRAFÍA.....	76

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura No. 1, Estructura esquemática de un citocromo P450.....	6
Figura No. 2, Mecanismo de acción del citocromo P450.....	9
Figura No. 3, Componentes moleculares del sistema citocromo P450 celular en la membrana del retículo endoplásmico.....	9
Figura No. 4, Proporción de las principales enzimas del citocromo P450 que metabolizan fármaco.....	11
Figura No. 5, Localización del gen <i>CYP2D6</i>, locus <i>22q13.1</i>.....	11
Figura No. 6, Formato para el diagnóstico de la depresión mayor (DSM-IV).....	26
Figura No. 7, Estructuras químicas de antidepresivos tricíclicos.....	28
Figura No. 8, Sitios de recaptura de la norepinefrina bloqueados por desipramina.....	31
Figura No. 9, Sitios de recaptura de serotonina bloqueados por fluoxetina.....	32
Figura No. 10, Propiedades anticolinérgicas de la amitriptilina.....	32
Figura No. 11, Reacción en cadena de la polimerasa.....	45
Figura No. 12, Representación de la metodología que se realizó en esta investigación desde la toma de muestra de sangre periférica de pacientes con depresión hasta el análisis de resultados.....	51

	Pág.
Figura No. 13, Secuencia amplificada del alelo <i>CYP2D6*3</i> con un total de 270 pares de bases.....	55
Figura No. 14, Secuencia amplificada del alelo <i>CYP2D6*4</i> con un total de 350 pares de bases.....	56
Figura No. 15, Genotipos que se esperan obtener después de realizar la digestión con sus respectivas enzimas de restricción.....	57
Figura No. 16, Amplificación de las muestras de ADN genómico, tanto para el alelo <i>CYP2D6*3</i> y <i>CYP2D6*4</i>	59
Figura No. 17, Genotipos que se encontraron para el alelo <i>CYP2D6*3</i> en pacientes con depresión.....	59
Figura No. 18, Genotipos que se encontraron para el alelo <i>CYP2D6*4</i> en pacientes con depresión.....	60

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla No. 1, Ejemplos de fármacos que presentan metabolismo relacionado con <i>CYP2D6</i>	13
Tabla No. 2, Rangos de separación de ADN, en geles de agarosa a diferentes concentraciones.....	46
Tabla No. 3, Rangos de separación de ADN, en geles de poliacrilamida a diferentes concentraciones.....	47
Tabla No. 4, Secuencia de los oligonucleótidos y enzimas de restricción empleadas para la determinación genotípica de los alelos de <i>CYP2D6</i>	54
Tabla No. 5, Mezcla por reacción de PCR para la amplificación de los fragmentos de interés en la determinación genotípica de los alelos <i>CYP2D6*3</i> y <i>*4</i>	54
Tabla No. 6, Condiciones de amplificación para los pares de oligonucleótidos.....	55
Tabla No. 7, Mezcla por RFLP para la obtención de los fragmentos de interés en la determinación genotípica de los alelos <i>CYP2D6*3</i> y <i>*4</i>	56
Tabla No. 8, Frecuencias genotípicas de los pacientes con depresión.....	60
Tabla No. 9, Frecuencias alélicas de los pacientes con depresión.....	61
Tabla No. 10, Análisis comparativo de frecuencias alélicas de <i>CYP2D6*1</i> , <i>*3</i> y <i>*4</i> en diferentes poblaciones.....	62

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro No. 1, Ejemplos de sustratos de algunas isoenzimas, así como fármacos que inducen y/o inhiben a las mismas.....	7
Cuadro No. 2, Nomenclatura de los alelos de <i>CYP2D6</i>	12
Cuadro No. 3, Interacciones medicamentosas entre antidepresivos tricíclicos y otros medicamentos.....	37

I. RESUMEN

La farmacogenética es el estudio de los factores genéticos que determinan la respuesta a los medicamentos. Es un campo que se estableció desde la década de los cincuenta, como resultado de observaciones clínicas sobre diferencias genéticas individuales en la respuesta a fármacos. A mediados de los setenta dos grupos de investigadores encontraron en forma independiente una deficiencia genética en el metabolismo de la debrisoquina, un fármaco utilizado como antihipertensivo, y la esparteína, un oxitócico. Posteriormente se demostró que dicha respuesta se había debido a un defecto en la 4-hidroxilación de la debrisoquina o de la esparteína. Este fenómeno descrito para la debrisoquina y la esparteína es lo que en farmacogenética se le llama polimorfismo genético. El metabolismo oxidativo de estos fármacos está controlado por un único gen denominado *CYP2D6* que se encuentra en el cromosoma 22q13.1 y es parte de un grupo que incluye dos o tres pseudogenes relacionados. Sin embargo, sólo un alelo de este gen codifica para una enzima funcional y los homocigotos normales presentan el fenotipo de metabolizadores rápidos (EM). Por otro lado, los individuos metabolizadores lentos (PM) son homocigotos para alguno de los más de 70 alelos mutantes de *CYP2D6* conocidos, mientras que los sujetos con duplicaciones o amplificaciones de este gen corresponden a los metabolizadores ultra rápidos (UM).

En el tratamiento clínico de los pacientes con depresión se usan fármacos antidepresivos, en especial los antidepresivos tricíclicos (ADTs) y los inhibidores selectivos en la recaptura de serotonina (ISRS), que son metabolizados por la enzima *CYP2D6*. La gran variabilidad en la respuesta a estos medicamentos puede ser secundaria al genotipo individual para esta enzima. La importancia de conocer los fenotipos metabolizadores radica en que los metabolizadores lentos tienen mayores riesgos de presentar efectos colaterales y tóxicos a varios medicamentos. En contraste, los individuos metabolizadores ultra rápidos requieren mayores dosis de los fármacos para alcanzar concentraciones plasmáticas terapéuticas. Por lo tanto, la genotipificación individual de las variantes alélicas de las enzimas metabolizadoras de drogas permitirá administrar una farmacoterapia individualizada, disminuir los efectos secundarios y optimizar la dosis del fármaco utilizado. Para esto fue importante determinar la frecuencia del polimorfismo de *CYP2D6* en pacientes con depresión.

En esta investigación participaron 62 pacientes con depresión, que firmaron hoja de consentimiento informado. A todos se les extrajo ADN genómico a partir de sangre periférica y se amplificaron regiones específicas para los alelos *CYP2D6**3 y *CYP2D6**4. Los productos de PCR se digirieron con las enzimas *Msp I* y *Mva I* y se analizaron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida. Los resultados mostraron que el alelo funcional o tipo silvestre *CYP2D6**1, tuvo una frecuencia de 81%, el alelo *CYP2D6**3 fue de 3% y el alelo *CYP2D6**4 fue de 16%. Los genotipos obtenidos para ambos alelos indicaron que el homocigoto normal es el que presenta una mayor frecuencia con un 63%, el heterocigoto *1/*3 tuvo una frecuencia de 6%, el heterocigoto *1/*4 tuvo una frecuencia de 29% y el homocigoto mutado *4/*4 una frecuencia de 2%. El genotipo homocigoto mutado *3/*3 no se encontró en ningún caso.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 FARMACOGENÉTICA

Cada ser humano es el fruto de la interacción de sus genes con el ambiente. Existe una gran heterogeneidad en la manera en que los individuos responden a los medicamentos en términos de la toxicidad y de la eficacia del tratamiento. Es bien sabido que cuando varios pacientes reciben la misma dosis de un fármaco en particular, el efecto puede ser excelente en muchos individuos, sin embargo en otros puede no tener ningún efecto e incluso ser tóxico y, aún letal, en algunos cuantos. Las causas potenciales para esta variabilidad en los efectos de los fármacos incluyen la patogénesis y severidad de la enfermedad que está siendo tratada, las interacciones entre diferentes fármacos, la edad del individuo, el estado nutricional, la función renal y hepática y alguna enfermedad concomitante. A pesar de la importancia potencial de estas variables clínicas en la determinación de los efectos de los fármacos, actualmente se reconoce que las diferencias hereditarias en el metabolismo y excreción de los fármacos, además de las diferencias genéticas que se reflejan en los sitios de acción de los mismos (por ejemplo, receptores), pueden tener una influencia mayor en la eficacia y toxicidad de los medicamentos. Esta variabilidad genética en la respuesta a los fármacos constituye el área de estudio de la *farmacogenética* (Nebert, 1999; Vesell, 2000).

Es probable que las primeras observaciones farmacogenéticas fueran realizadas por Pitágoras en el año 510 a.C., quien reconoció el favismo describiéndolo como “el peligro que corren algunos individuos, pero no otros, al comer habas”. En la actualidad se sabe que este trastorno es una anemia hemolítica que se presenta como consecuencia de la deficiencia de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. No obstante, algunos autores sitúan el nacimiento de la farmacogenética a partir de los estudios de Snyder en 1932, en los que describe la incapacidad de reconocer el sabor de la feniltiourea como un carácter autosómico recesivo. Desde el siglo XIX, se ha aceptado el conocimiento de las variaciones individuales en respuesta al tratamiento de fármacos. Estas variaciones se observaron a través de descripciones de los protocolos de administración de fármacos que en la actualidad se aceptan en la práctica médica (Nebert, 1997a).

Desde los años cincuenta, diversas observaciones clínicas apoyaron la propuesta de que había un componente genético en las respuestas individuales al efecto de los fármacos, como:

- 1) Una prolongada relajación muscular después de administrar suxametonio relacionada con una forma hereditaria de niveles bajos de colinesterasa en plasma.
- 2) La presencia de hemólisis después de la terapia antimalárica que se vinculó con los niveles hereditarios de la actividad de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.
- 3) La aparición de neuropatía periférica en pacientes con tuberculosis producida por tratamiento con isoniazida.

Subsecuentemente se demostró que la isoniazida era biotransformada por acetilación y que las personas diferían significativamente en su capacidad para acetilarla, clasificándose como acetiladores lentos y acetiladores rápidos, siendo la acetilación lenta el factor genético responsable de la neuropatía periférica. Tales evidencias podrían considerarse las bases principales que posteriormente originaron la farmacogenética (Kallow, 1962; Weber 1997).

En 1957 Motulsky fue el primero en sugerir que ciertas reacciones adversas a los medicamentos podrían ser causadas por variaciones, determinadas genéticamente, en la actividad de las enzimas responsables de su metabolismo a nivel hepático. Poco después, el término Farmacogenética fue introducido por Vogel en el año de 1959, para estudiar las variaciones genéticas en la respuesta a los fármacos. Por lo tanto, la farmacogenética estudia la variación genética responsable de las diferencias individuales en la respuesta a los fármacos y a los xenobióticos. Estas variaciones pueden implicar diferencias individuales en la eficiencia terapéutica y/o reacciones adversas al fármaco. Posteriormente el término farmacogenética fue ampliado al de ecogenética para abarcar las diferencias genéticas que determinan la susceptibilidad de los individuos a la acción de agentes físicos, químicos y biológicos del ambiente (Motulsky, 1957; Müller, 2000; Vessell, 2000; Vogel, 1959).

En los últimos años se han descrito muchos ejemplos de reacciones adversas a ciertos fármacos que se atribuyen a rasgos heredados y observados tras la administración de una dosis adecuada de estos. La fuente de variación metabólica interindividual parece ser la expresión polimórfica de varias enzimas metabolizadoras de fármacos, la actividad de éstas es un determinante mayor tanto para la intensidad como para la duración de la acción de los fármacos. La mayoría de las diferencias farmacogenéticas caracterizadas a escala molecular se relacionan con la diversidad en los genes que codifican para las enzimas capaces de metabolizar fármacos y, en menor grado, en los genes que codifican para sus receptores y transportadores (Meyer, 1994).

2.2 FARMACOGENÓMICA

El término farmacogenómica es tan nuevo que no está considerado aún en la mayoría de los textos de farmacología y genética, ni en los diccionarios científicos. El impacto del estudio del genoma humano en las Ciencias Farmacéuticas aún no es cuantificable, pero no hay duda de que potenciará positivamente las estrategias farmacéuticas y la práctica médica tradicional. Este conocimiento ya ha dado como resultado el nacimiento de una nueva disciplina, la farmacogenómica, la cual puede definirse como la aplicación de la tecnología genómica en el desarrollo de fármacos y de esquemas terapéuticos diseñados para lograr ensayos clínicos más exitosos y terapéuticas más efectivas y menos tóxicas. La farmacogenómica incluye no sólo la farmacodinámica, sino también la farmacocinética. Esta disciplina emerge de la farmacogenética y del uso de técnicas moleculares tradicionales para estudiar las diferencias en los genes individuales que codifican para proteínas que participan en las vías metabólicas de los fármacos (Destenaves *et al*, 2000; Wallace, 1999).

El objetivo de la farmacogenómica es descubrir las bases genéticas y los mecanismos moleculares de la enfermedad que permitan definir las mejores blancos terapéuticos posibles y desarrollar fármacos que actúen de forma específica y altamente eficaz sobre ellos. La mayor parte de los fármacos terapéuticos sufren un proceso de biotransformación que tiene lugar, principalmente en el hígado. De forma típica, es un proceso que consta de una o dos etapas, las enzimas transforman las moléculas lipofílicas del fármaco en un metabolito más hidrosoluble, que habitualmente representa la forma activa del fármaco. Estos metabolitos posteriormente se

metabolizan y se eliminan del organismo. Esta ruta está determinada por parámetros genéticos. Los polimorfismos se refieren a pequeñas diferencias o mutaciones en la dotación genética y pueden producir modificaciones en las enzimas que codifican, siendo posteriormente las responsables de la actividad enzimática alterada (Pickar *et al*, 2001).

El genotipo determina el fenotipo por lo que se han descrito tres fenotipos diferentes de respuesta a los fármacos:

- 1) Metabolizadores lentos o pobres (MP), que muestran poca o nula capacidad para metabolizar un fármaco.
- 2) Metabolizadores extensos, rápidos o normales (EM), que representa la población normal.
- 3) Metabolizadores ultra extensos o ultra rápidos (UM), que metabolizan un fármaco mucho más rápido que la población normal.

Tanto los metabolizadores lentos, como ultra extensos muestran concentraciones plasmáticas anormales del fármaco y sus metabolitos, los lentos no son capaces de metabolizar el fármaco y acumulan dosis elevadas, que pueden ser tóxicas. Los metabolizadores ultra extensos no suelen mostrar respuesta clínica en absoluto debido a su tendencia a eliminar los fármacos del organismo antes de que puedan hacer efecto. En este contexto, los análisis genéticos no tratan de detectar los síntomas de una alteración genética si no que, pretenden detectar la propia alteración genética para que a partir de ella, se puedan extrapolar conclusiones sobre el fenotipo y predecir la respuesta a la farmacoterapia (Münker, 2000).

2.3 ENZIMAS METABOLIZADORAS DE FÁRMACOS

Durante varias décadas (1950-1980) las Enzimas Metabolizadoras de Fármacos (*Drug-Metabolizing Enzymes*, DME) fueron generalmente descritas como sistemas hepáticos de destoxificación, responsables de la degradación de fármacos y otros contaminantes ambientales para facilitar su excreción. Sin embargo, es importante señalar que estas enzimas no son exclusivas del hígado, sino que se encuentran ampliamente distribuidas, y que la acción destoxificante tal vez representan menos del 1% de todas las funciones de las DME. Desde el punto de vista evolutivo las DME son muy antiguas, algunas de ellas existían desde antes de que ocurriera la divergencia entre las eubacterias y los eucariontes, sugiriendo que estas enzimas eran responsables de funciones vitales (por ejemplo, el balance electrolítico y la división celular) mucho antes de la divergencia entre plantas y animales (Nebert *et al*, 2000).

Las DME también están implicadas en la síntesis y la degradación de todas las moléculas no peptídicas que participan en la modulación, vía ligando, del proceso de transcripción que afecta crecimiento, diferenciación, apoptosis, homeostasis y funciones neuroendócrinas. Tal es el caso de la ciclo oxigenasa, la leucotrieno-C₄ sintasa (una glutatión transferasa), la tromboxano sintasa (*CYP5*) y la prostaciclina sintasa (*CYP8*) que representan cuatro de las muchas DME que participan en la cascada del ácido araquidónico. Un fármaco

dentro del cuerpo humano es afectado por procesos de unión, distribución, transformación bioquímica, metabolismo y excreción. Únicamente una pequeña fracción de la dosis total del fármaco es la responsable del efecto terapéutico, ya que el resto se metaboliza y se excreta. La manera en que el hígado, principalmente metaboliza los fármacos varía dependiendo del tipo de molécula de que se trate: algunas son llevadas hasta CO₂ y agua las cuales son eliminadas por medio de la respiración, mientras otras son modificadas para excretarse en la orina, la bilis o las heces (Cervantes *et al*, 2001; Nebert *et al*, 1996).

En el ser humano, las DME pertenecen a varios tipos de enzimas que en conjunto son capaces de metabolizar casi cualquier compuesto químico al cual es expuesto el organismo. Los mecanismos de biotransformación de fármacos pueden dividirse en dos grupos:

- a) Las DME de la fase I, que están principalmente representadas por citocromos P450 (codificados por la familia de genes *CYP*).
- b) Las DME fase II, (como las UDP-glucuronosil-transferasas, las glutatión-transferasas, las N-acetil-transferasas y las sulfo-transferasas) (Nebert 1997b).

La variabilidad genética en el nivel de expresión o función de las DME tiene un efecto significativo en la eficacia terapéutica. Entre los fármacos que han revelado variabilidad genética en su metabolismo se encuentran: isoniazida, primaquina, tiopurinas (6-mercaptopurina), debrisoquina, codeína, warfarina, diazepam, clozapina y sulfonamidas (Weber, 1997).

2.4 CITOCROMO P450

La familia de enzimas del citocromo P450 constituye el principal catalizador de las reacciones de biotransformación de medicamentos. Desde su origen, la familia del gen del citocromo P450 se ha diversificado para encargarse del metabolismo de fármacos y xenobióticos. Son una familia de hemoproteínas, localizadas en las membranas del retículo endoplásmico de los hepatocitos y de otras células corporales. Estas hemoproteínas consisten de una parte proteica (apoproteína) y un grupo heme prostético como se muestra en la Figura No. 1. El citocromo P450 es un grupo de isoenzimas que poseen la capacidad de sufrir oxidación y reducción, uniéndose y transportando oxígeno y electrones hacia moléculas orgánicas. Las isoenzimas están controladas por genes (P procede de pigmento y 450 de la máxima absorción de longitud de onda cuando se expone a monóxido de carbono) y son esenciales para la oxidación microsomal de numerosos fármacos. El sistema de nomenclatura desarrollado para diferenciar a las isoenzimas específicas se basa en la similitud de su secuencia de aminoácidos. El primer número arábigo después del prefijo *CYP* indica una familia en la que existe una similitud superior al 40% en la secuencia de aminoácidos. Una letra mayúscula indica la subfamilia, en la que de nuevo, existe una similitud superior al 55% en la secuencia de aminoácidos. El último número arábigo designa el producto génico específico (Fossi *et al*, 1993; Nebert *et al*, 1991; Riesenman, 1995; Slaughter *et al*, 1995).

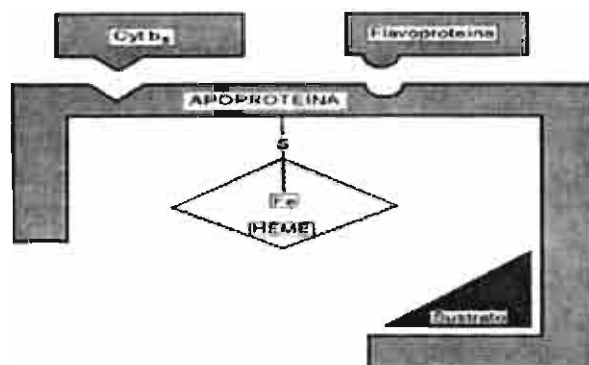


Figura No. 1, Estructura esquemática de un citocromo P450.
(Fuente: Fossi *et al*, 1993)

La vía metabólica del sistema CYP450 se produce predominantemente en el retículo endoplásmico de los hepatocitos, aunque también existen algunas isoenzimas *CYP* en el cerebro, el pulmón, el riñón y el intestino. Por ejemplo las isoenzimas *CYP2D6* se localizan en el cerebro, y las isoenzimas *CYP3A* en el riñón y el tracto gastrointestinal, además del hígado. Las reacciones metabólicas en las que participan *CYP1*, *CYP2* y *CYP3* son diversas y consisten en hidroxilación, desmetilación y desalquilación. Los procesos de fase I, implican la degradación de algunos fármacos originales en metabolitos antes de su transformación en los procesos de fase II (conjugación o acetilación), lo cual origina metabolitos hidrosolubles que pueden excretarse por el riñón. Los metabolitos de fase I, como algunos fármacos inalterados, pueden excretarse sin sufrir el metabolismo de fase II. Estas acciones no son específicas para una isoenzima, por lo que diversos fármacos son biotransformados por más de una isoenzima. Los fármacos pueden caracterizarse como sustratos, inhibidores o inductores de las isoenzimas *CYP*. Los sustratos de una isoenzima no inhiben necesariamente a dicha enzima, pero un fármaco puede ser un inhibidor de *CYP* en zonas en donde no está metabolizado. Por ejemplo, la quinidina es un sustrato de *CYP3A* y un inhibidor de *CYP2D6*. Cuando una misma isoenzima metaboliza a más de un sustrato, los fármacos pueden describirse como inhibidores competitivos de dicha isoenzima, con la posibilidad de que pueda retrasarse el metabolismo de uno o ambos fármacos. El grado en que un fármaco inhiba a una isoenzima depende de: la cantidad de fármaco característico, la afinidad del fármaco para la isoenzima y la concentración del fármaco en el sitio de acción. En el Cuadro No. 1 se muestran ejemplos de sustratos de algunas isoenzimas, así como también ejemplos de inductores e inhibidores de las mismas (Slaughter *et al*, 1995; Wrighton *et al*, 1992).

Cuadro No. 1, Ejemplos de sustratos de algunas isoenzimas, así como fármacos que inducen y/o inhiben a las mismas.

Isoenzima	Sustratos		Inductores	Inhibidores
CYP1A2	paracetamol teofilina amitriptilina	clozapina imipramina propranolol	fenobarbital omeprazol tabaco	fluvoxamina jugo de toronja quinolona
CYP2C9	warfarina fenitoína tolbutamida	diclofenaco piroxicam naproxeno	barbitúricos rifampicina alcohol	sulfafenazol ketoconazol metronidazol
CYP2C19	diazepam imipramina citalopram	omeprazol propranolol hexobarbital	barbitúricos	fluoxetina omeprazol ritonavir
CYP2D6	amitriptilina desipramina imipramina paroxetina	dextrometorfano metoprolol propranolol tioridazina	rifampicina	quinidina fluoxetina paroxetina norfluoxetina
CYP2E1	paracetamol cafeína	dapsona acetaminofén	alcohol isoniazida	disulfiram
CYP3A4	imipramina alprazolam midazolam verapamil	astemizol nifedipina quinidina lidocaina	carbamecepa dexametasona rifampicina barbitúricos	ketoconazol itraconazol eritromicina

(Fuente: Riesenman, 1995)

Los factores que afectan al resultado de la inhibición competitiva son la afinidad del fármaco por esa isoenzima y la concentración del fármaco en la zona metabólica. Diversas variables, como la potencia, pueden determinarse con estudios *in vitro*, pero su extrapolación a situaciones *in vivo* es incierta. Por tanto, puede determinarse un orden de rangos de potencia, pero la potencia inhibidora de un fármaco con respecto a otro sólo puede estimarse. Las limitaciones de los resultados *in vitro* son la gran variabilidad de las isoenzimas CYP humanas, la fracción libre del fármaco activo en la zona hepática (que depende de su unión a las proteínas plasmáticas) y la existencia de metabolitos activos o inactivos que puedan inhibir a las isoenzimas de forma más importante que el fármaco original (por ejemplo, norfluoxetina sobre CYP2D6) (Riesenman, 1995).

Los fármacos también pueden metabolizarse a través de más de una enzima. Un método común de identificación de la capacidad metabolizadora de una enzima específica para un determinado fármaco consiste en utilizar fármacos “de exploración” que se metabolizan casi exclusivamente por una isoenzima. Cuando se utilizan en asociación con un segundo fármaco puede determinarse la potencia de inhibición metabólica de este segundo fármaco. Además de las variables relacionadas con la potencia, los polimorfismos genéticos causan una variación sobreañadida. Se sabe que CYP2D6, CYP2C19 y CYP2E1 son muy polimórficas, y algunos datos no verificados indican que CYP1A2 y CYP3A4 también pueden serlo. Aproximadamente del 3% al 5% de los individuos caucásicos y del 18% al 23% de los asiáticos y negros poseen una actividad baja o ausente de CYP2C19. Así mismo, del 3% al 10% de los caucásicos y menos del 3% de los negros y asiáticos poseen una actividad baja o ausente de CYP2D6. Todos estos sujetos se denominan “metabolizadores pobres” para dicha

isoenzima, en contraste con los “metabolizadores rápidos”, cuyas isoenzimas pueden metabolizar a una sustancia de forma previsible. Los “metabolizadores pobres” pueden utilizar isoenzimas alternativas para el proceso de biotransformación. En estos sujetos, las concentraciones de los fármacos con una vía metabólica predominante que requiera *CYP2D6* (por ejemplo, desipramina, perfenazina, risperidona) son de tres a cinco veces mayores que en los “metabolizadores rápidos”. Los “metabolizadores rápidos” poseen una capacidad metabólica acelerada para determinadas isoenzimas (por ejemplo, mutación en el gen de *CYP2D6* para un estado de “ultrametabolizador”) (Nebert *et al*, 1991; Riesenman, 1995; Slaughter *et al*, 1995).

2.4.1 Funciones que cumplen los citocromos P450

En la actualidad se conocen más de mil sustratos en las que este tipo de enzimas actúa. Dentro de las funciones más importantes que desempeñan los citocromos P450 se encuentran:

- Funciones detoxificadoras, eliminando sustancias exógenas, es decir, sustancias que no son sintetizadas en el propio organismo. Esto se logra agregando grupos funcionales, hidrosolubles a compuestos de carácter lipofílico.
- Funciones de metabolismo endógeno, es decir, la degradación de sustancias del propio organismo, mencionando como ejemplo a los esteroides, sales biliares, vitaminas liposolubles (A y D), alcaloides endógenos, etc.
- En algunos organismos sirve como mecanismo de defensa ante el ataque de alcaloides tóxicos de plantas y les aporta, por lo tanto, un alimento abundante que no es apetecible por otros organismos (Riesenman, 1995).

2.4.2 Mecanismo de acción del citocromo P450

En la Figura No. 2, se muestra el mecanismo de acción del citocromo P450, el cual se puede explicar de la siguiente manera:

1) Comienza atrapándose el sustrato al citocromo férrico (Fe^{3+}). 2) Un electrón es transferido al átomo Fe, pasando éste a su estado ferroso (Fe^{2+}), esta transferencia es a veces realizada por proteína citocromo b_5 . 3) Esta forma ferrosa se une a una molécula de O_2 . 4) Se realiza una segunda reducción agregándose un electrón y además un protón. 5) Este intermediario pierde una molécula de agua dejando un complejo $(\text{FeO})^{3+}$ que directamente oxida el sustrato.

2.5 POLIMORFISMO GENÉTICO *CYP2D6*

Los fármacos pueden producir efectos indeseados porque se acumulan hasta que alcanzan concentraciones anormales elevadas, que son tóxicas. Esto ocurre cuando los sistemas de eliminación no funcionan con la efectividad esperada. Muchos fármacos son eliminados por metabolización hepática. Ésta es mediada por la superfamilia de enzimas del citocromo P450. Su conocimiento ha permitido no sólo entender mejor las causas de la variabilidad en la respuesta a los fármacos, sino también el mecanismo de numerosas reacciones adversas (Riesenman, 1995).

En un estudio realizado en 1975 por investigadores británicos sobre la farmacocinética del agente antihipertensivo debrisoquina, se observó un episodio de hipotensión severo en algunos individuos. Se comprobó que estos efectos secundarios estaban relacionados con la dosis del fármaco y eran resultado de la incapacidad del paciente para eliminar la debrisoquina mediante la conversión a su metabolito hidroxilado inactivo. Posteriormente, los estudios familiares y poblacionales verificaron la naturaleza genética de este defecto metabólico y establecieron su naturaleza polimórfica al observar que 5-10% de la población caucásica era Metabolizador Pobre (PM) en relación con el resto (EM o Metabolizador Rápido). En la misma época, investigaciones independientes sobre la variación de la respuesta al agente antiarrítmico y oxitócico, esparteína, descubrieron que una proporción similar de sujetos en Alemania eran incapaces de convertir enzimáticamente a la esparteína en sus metabolitos 2- y 5- deshidroesparteína (Kalow *et al*, 2001).

En los años ochenta y noventa, la variabilidad interindividual en la hidroxilación fue objeto de una intensa investigación, y ahora se sabe que algunos citocromos presentan polimorfismo genético. Esto significa que se pueden distinguir dos poblaciones diferenciadas, según la capacidad y la velocidad de metabolización de sustratos farmacológicos. Los individuos homocigotos con dos alelos normales y los heterocigotos. Los homocigotos con actividad enzimática reducida o ausente se denominan Metabolizadores Pobres (PM), este fenotipo es un rasgo hereditario autosómico recesivo. Algunos individuos son Metabolizadores Ultra rápidos (UM): ya que presentan una velocidad aumentada de metabolización porque tienen varias copias de genes metabolizadores. Estas diferencias pueden ser causa de variabilidad en la respuesta a los fármacos eliminados por esta vía (Kalow *et al*, 2001; Riesenman, 1995).

Se puede apreciar que la enzima *CYP2D6* metaboliza aproximadamente 25% de los fármacos que están actualmente en el mercado. En la figura No. 4, se muestra las principales enzimas del citocromo P450 y la proporción de fármacos que metabolizan. Los polimorfismos del *CYP2D6* han sido considerados como uno de los factores críticos que causan susceptibilidades individuales diferentes en la respuesta a los fármacos. Como resultado de la especificidad relativamente pequeña por el sustrato entre las proteínas del citocromo P450, dos o más enzimas individuales suelen catalizar una reacción de biotransformación en particular. La *CYP3A4* interviene en la biotransformación de casi todos los fármacos, y se expresa en niveles notables fuera del hígado. Se sabe ahora que un factor importante que

contribuye a la baja biodisponibilidad de muchos fármacos ingeridos, es el extenso metabolismo por parte de *CYP3A4* en las vías gastrointestinales (Kimura *et al*, 1989).

Enzimas que exhiben polimorfismo genético en humanos.

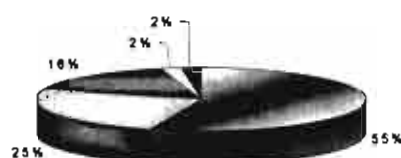


Figura No. 4, Proporción de las principales enzimas del citocromo P450 que metabolizan fármacos. El 55% de los fármacos son metabolizados por la *CYP3A4*; con un 25% la *CYP2D6* entre los que se encuentran los antidepresivos; el 16% son metabolizados por la *CYP2C*; y con 2% la *CYP2E1* y la *CYP1A2* respectivamente. (Fuente: Medina *et al*, 2002)

El gen *CYP2D6* se localiza en el cromosoma 22q13.1 (como se muestra en la Figura No. 5) y es parte de un grupo que incluye dos o tres pseudogenes relacionados *CYP2D7P* y *CYP2D8P*. Sin embargo, sólo un alelo de este gen codifica para una enzima funcional y los homocigotos presentan un fenotipo EM (Metabolizador Rápido). En contraste, los individuos PM (Metabolizadores Pobres) son homocigotos para alguno de los más de 70 alelos mutantes de *CYP2D6* conocidos (Kimura *et al*, 1989).

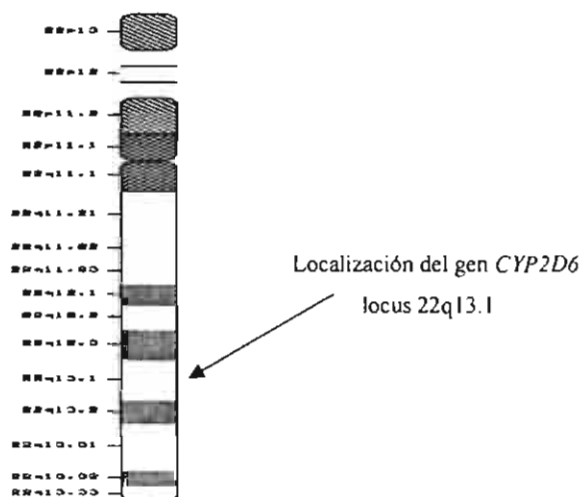


Figura No. 5, Localización del gen *CYP2D6*, locus 22q13.1
(Fuente: http://www.genome.ad.jp/dbget-bin/www_bget?omim+124030)

En los últimos años se ha realizado un gran esfuerzo para emprender la identificación de los alelos polimórficos del gen *CYP2D6*, así como la caracterización de los productos del gen y afirmar las consecuencias del genotipo y fenotipo. En 1996 Daly y col. presentaron una

nomenclatura en la que describen 25 diferentes alelos determinados como *2D6*1* a *2D*17*, con algunos de sus subtipos. En 1997 Marez y col. presentaron 36 nuevas variantes alélicas de *CYP2D6* incrementando la cantidad por arriba de 50, en el Cuadro No. 2, se muestran algunas variantes alélicas del gen *CYP2D6*. Sin embargo dos variantes alélicas del gen *CYP2D6*, *CYP2D6*3* y *CYP2D6*4*, han sido consideradas como uno de los principales factores críticos que causan susceptibilidades individuales en la respuesta a los fármacos. El polimorfismo *CYP2D6*3* se caracteriza por una delección de una A₂₆₃₇ en el exon 5, con una frecuencia de 2.7%. El polimorfismo *CYP2D6*4* se caracteriza por una substitución de una G₁₉₃₄→A, con una frecuencia de 21.5% a 28.6%. Otros polimorfismos poco comunes representan el 1% de las variaciones alélicas de *CYP2D6* (Dahl *et al*, 1995a; Daly *et al*, 1996; Marez *et al*, 1997).

Cuadro No. 2, Nomenclatura de los alelos de *CYP2D6*.

Alelo	Mutación	Nombre Trivial	Referencia
<i>CYP2D6*1A</i>	Ninguna	Tipo Silvestre	Kimura <i>et al</i> , 1989
<i>CYP2D6*1B</i>	3828G→A		Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*1C</i>	1978C→T	M4	Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*1D</i>	2575C→A	M5	Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*1E</i>	1869T→C		Sachse <i>et al</i> , 1998
<i>CYP2D6*2A</i>	-1584C→G; -1235A→G; -40C→T; -678G→A; 1661G→C; 2850C→T; 4180G→C	<i>CYP2D6L</i>	Johansson <i>et al</i> , 1994
<i>CYP2D6*2B</i>	1039C→T; 1661G→C; 2850C→T; 4180G→C		Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*2C</i>	1661G→C; 2470T→C; 2850C→T; 4180G→C		Marez <i>et al</i> , 1997 Sachse <i>et al</i> , 1998
<i>CYP2D6*2D</i>	2850C→T; 4180G→C	M10	Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*2E</i>	997C→G; 1661G→C; 2850C→T; 4180G→C	M12	Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*2F</i>	1661G→C; 1724C→T; 2850C→T; 4180G→C	M14	Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*2G</i>	1661G→C; 2470T→C; 2575C→A; 2850C→T; 4180G→C	M16	Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*2H</i>	1661 G→C; 2480C→T; 2850C→T; 4180G→C	M17	Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*2J</i>	1661G→C; 2850C→T; 2939G→A; 4180G→C	M18	Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*2K</i>	1661G→C; 2850C→T; 4115C→T; 4180G→C	M21	Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*3A</i>	2549A→Delección	<i>CYP2D6A</i>	Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*3B</i>	1749A→G; 2549A→Delección		Marez <i>et al</i> , 1997
<i>CYP2D6*4A</i>	100C→T; 974C→A; 984A→G; 997C→G; 1661G→C; 1846G→A; 4180G→C	<i>CYP2D6B</i>	Johansson <i>et al</i> , 1994 Marez <i>et al</i> , 1997 Sachse <i>et al</i> , 1998

(Fuente: <http://www.imm.ki.se/CYPalleles/cyp2d6.htm>)

Los estudios basados en la proporción entre el fármaco y su metabolito (MR, Metabolic Ratio) utilizando como fármacos de prueba a la debrisoquina, a la esparteína y al dextrometorfán, han demostrado gran variabilidad entre los diferentes sujetos. La diferencia fenotípica observada en los valores MR también ha permitido clasificar a los individuos como PM, EM y UM. El fenotipo PM, se clasifica en sujetos con MR debrisoquina mayor a 12.6, con un MR esparteína mayor a 20 y con un MR con dextrometorfán mayor a 0.3, el fenotipo

UM, se define en sujetos con MR debrisoquina mayor a 0.20 y con un MR esparteína mayor a 0.15, mientras que el fenotipo EM le corresponden valores de MR entre ambos extremos (Bathum *et al*, 1998; Dahl *et al*, 1995a).

Las diferencias individuales en las tasas metabólicas alteran la relación esperada entre la dosis de un fármaco y su concentración en la sangre o el tiempo que permanece en la sangre. Más aún, un polimorfismo en esta enzima (*CYP2D6*) pueden conducir a un efecto terapéutico prolongado o excesivo, o incluso a un efecto tóxico después de la administración de una dosis normal del fármaco. Los individuos PM pueden tener mayor predisposición a efectos colaterales de ciertos fármacos. Se ha podido comprobar que algunas reacciones adversas de tipo A (efecto farmacológico aumentado), dependen de la concentración del fármaco, y son más frecuentes entre los PM, mientras que las causadas por metabolitos activos son más frecuentes entre los UM. La identificación de sujetos UM tiene un gran valor potencial clínico, ya que cuando los pacientes no responden a las dosis estándar y tienen concentraciones plasmáticas más bajas de lo esperado, con relación a la dosis, es importante distinguir entre la capacidad elevada de metabolizar y la falta de respuesta al medicamento. Los UM de *CYP2D6* frecuentemente resultan de la herencia de alelos duplicados o genes *CYP2D6* funcionalmente amplificados (Cervantes *et al*, 2001; Lovlie *et al*, 2001).

Las distribuciones desiguales de los fenotipos UM, EM y PM entre las diferentes poblaciones mundiales conducen a diferencias metabólicas inter raciales además de las variaciones inter individuales. Los PM constituyen 5-10% de la población caucásica, 2% en negros americanos, 1% en orientales y del 0-8% para ghanianos y zimbabwianos dependiendo del fármaco que se utilice para la prueba. Además, se han observado diferencias en las frecuencias de los alelos mutados dependiendo del origen étnico de la población, por ejemplo: las duplicaciones de *CYP2D6* varían de 29% etíopes, 20% en árabes, 1-7% en caucásicos y 1-2% en orientales (Agundez *et al*, 1994; Aklillu *et al*, 1996; Dahl *et al*, 1995b; Ingelman-Sundberg, 1999; McLellan *et al*, 1997).

Finalmente, se observó que la enzima *CYP2D6* interviene en el metabolismo de numerosos fármacos antiarrítmicos, bloqueadores de receptores β -adrenérgicos, neurolépticos, antidepresivos y otros. En la Tabla No. 1, se muestran ejemplos de fármacos que presentan metabolismo relacionado con la *CYP2D6* (Kalow *et al*, 2001).

Tabla No. 1, Ejemplos de fármacos que presentan metabolismo relacionado con *CYP2D6*

Antiarrítmicos	Antidepresivos	β -bloqueadores	Neurolépticos	Misceláneos
amiodarona	imipramina	propranolol	perfenacina	codeína
encainida	desipramina	timolol	tiaridazina	debrisoquina
flecainida	amitriptilina	bufarolol	haloperidol	4-OH-anfetamina
esparteína	nortriptilina	metoprolol	risperidona	indoramin
propafenona	clomipramina		zuclopentixol	fenformin

(Tomado de: Medina *et al*, 2002)

2.6 DEPRESIÓN

2.6.1 Antecedentes Históricos

Numerosos textos antiguos contienen descripciones de lo que hoy conocemos como trastornos del estado de ánimo. La historia del rey Saúl en el Viejo Testamento y la del suicidio de Ajax en la *Iliada* de Homero describen síndromes depresivos. El trastorno depresivo mayor se caracteriza por uno o varios episodios depresivos severos que llevan a cambios marcados del funcionamiento previo, a veces con delirios y alucinaciones relacionados o no con el estado afectivo. Hipócrates (460-357 a.C.), quien planteó que las enfermedades mentales "no eran debidas a fuerzas sobrenaturales o mágicas", describió la melancolía como una de las enfermedades mentales más importantes e indicó que se producía por un desequilibrio de los fluidos humanos (bilis negra) y se caracterizaba por un estado de "aversión a los alimentos, desánimo, insomnio, irritabilidad e inquietud", de tal manera que "un temor o depresión que se prolongan significa una melancolía". El concepto de salud y enfermedad para los griegos se basaba en la armonía de los 4 humores: sanguíneo (que en exceso llevaba a la manía), melancólico, colérico (bilis amarilla, hoy concebido como trastorno de personalidad borderline) y flemático (similar al trastorno de personalidad evitativa). Para los romanos, el consumo excesivo de vino, las perturbaciones del alma debido a las pasiones como el amor y los disturbios en los ciclos de sueño, contribuían a la presencia de melancolía; además el otoño se consideraba estación propicia para la enfermedad. El término continuó siendo utilizado por otros autores médicos, como Areteo (120-180), Galeno (129-199) y Alejandro de Tralles en el siglo VI (Akiskal, 1995).

En el siglo XII el médico y filósofo judío Moisés Maimónides consideró a la melancolía como una entidad clínica discreta. En 1686 Bonet describió una enfermedad mental a la que llamó maniaco-melancholicus. Jean-Philippe Esquirol, fue el primer psiquiatra moderno en sugerir que la alteración primaria del afecto puede encontrarse en muchas formas de depresión o psicosis paranoides relacionadas. Llegó a considerar a la melancolía como una forma de locura parcial. En 1854 Jules Falret llamó folie circulaire, a una patología en la que el paciente experimentaba de forma cíclica estados depresivos y maníacos. Casi al mismo tiempo, otro psiquiatra francés, Jules G. F. Baillarger, definió la folie a double forme: los pacientes, profundamente deprimidos, entraban en un estado de estupor del que finalmente se recuperaban. En 1882, el psiquiatra alemán Karl Kahlbaum, mediante el término ciclotimia, describió la manía y la depresión como fases de una misma enfermedad. En 1899, Kraepelin, basándose en trabajos previos de diversos psiquiatras franceses y alemanes, definió una psicosis maniaco-depresiva con la mayoría de los criterios que los psiquiatras utilizan actualmente para diagnosticar el trastorno bipolar I. La ausencia de una evolución que llevara al deterioro y a la demencia diferenciaba la psicosis maniaco depresiva de la demencia precoz (tal como se denominaba entonces a la esquizofrenia). Kraepelin también describió una forma de depresión denominada melancolía involutiva y que se ha considerado desde entonces una forma de trastorno del estado de ánimo de inicio tardío; el trastorno empieza tras la menopausia en las mujeres y en los últimos años de la edad adulta en los hombres" (Akiskal, 1995).

Fue Adolf Mayer el primero en considerar que tanto factores biológicos como ambientales contribuían a la aparición de los trastornos depresivos. Él utilizó el término depresión, pues melancolía hacía referencia a causas puramente biológicas. Así, el término "depresión" denota un grupo de condiciones que van desde una respuesta disfórica a eventos medio ambientales adversos hasta un síndrome médico caracterizado por un ánimo depresivo constante acompañado de síntomas fisiológicos de aparición espontánea en algunas ocasiones. La "respuesta disfórica", fue definida en décadas pasadas como "depresión reactiva" o "depresión neurótica", mientras el cuadro definido de sintomatología depresiva de aparición espontánea fue llamado "depresión endógena" (lo que hoy conocemos como trastorno depresivo mayor tipo melancólico). En el primer caso se postulaba un mayor efecto de la psicoterapia y en el otro, de la farmacoterapia. Hoy en día esta subdivisión ha sido reevaluada y se asume que los trastornos depresivos son diferentes psicopatológica y biológicamente a los trastornos de ajuste. Ya en años más recientes el trastorno depresivo mayor fue descrito en el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-III) y actualmente en el DSM-IV en el que se especifica que los dos principales trastornos de este grupo son el trastorno depresivo mayor y el trastorno bipolar I (Akiskal, 1995).

2.6.2 Generalidades

Los trastornos afectivos –depresión mayor y manía (o enfermedad maniaco-depresiva bipolar)- están caracterizados por cambios en el estado de ánimo como manifestación clínica primaria. Cualquier estado anímico extremo puede asociarse con una psicosis, que se manifiesta como pensamientos y percepciones desordenados o delirantes, con frecuencias congruentes con el estado de ánimo que predomina. Por el contrario, los trastornos psicóticos pueden presentar cambios asociados con el estado de ánimo o secundarios a él; lo mismo ocurre en muchas enfermedades clínicas. Esta superposición de trastornos puede inducir a errores en el diagnóstico y el manejo clínico (American Psychiatric Association, 1995; Goodman, 1991).

En el curso de la vida, el riesgo de la morbilidad en la población general para la depresión mayor oscila entre el 5-10%, siendo una de las más comunes entre las principales enfermedades mentales; este trastorno debe diferenciarse de la aflicción, la tristeza y la decepción normales y de la disforia o desmoralización que con frecuencia se asocian con una enfermedad clínica. La depresión mayor se caracteriza por sentimientos de intensa tristeza y desesperación, lentitud mental y pérdida de la concentración, preocupación pesimista, agitación y disminución de la autoestima. También se producen cambios físicos, en especial en la depresión grave o "melancólica"; estos cambios incluyen insomnio o hipersomnia, anorexia y pérdida de peso, disminución de la energía, interrupción del ritmo circadiano normal de actividad, temperatura corporal y varias funciones endocrinas. Cerca de un 10 a 15% de los individuos que presentan este trastorno muestran una conducta suicida. Este padecimiento responde muy bien a los antidepresivos tricíclicos y a otros antidepresivos convencionales, como lo son los inhibidores de la monoaminoxidasa (MAO) y a los inhibidores de la recaptura de serotonina o, en casos graves o resistentes al tratamiento, con técnicas electroconvulsivas (TEC) (Goodman, 1991; James *et al*, 1994; Kalow *et al*, 2001).

La decisión para efectuar el tratamiento con un antidepresivo está basado sobre la presencia del síndrome clínico y su gravedad, así como sobre los antecedentes familiares y personales del paciente. La mayoría de los agentes antidepresivos ejercen una acción importante sobre el metabolismo de las monoaminas neurotransmisoras y sus receptores. Su efectividad y acción terapéutica, junto con la evidencia de una predisposición genética, han llevado a especular sobre las bases biológicas de los trastornos afectivos mayores, que podrían incluir un funcionamiento anormal en la neurotransmisión de las monoaminas. La manía está caracterizada por una euforia excesiva, en general acompañada de disforia o marcada por irritabilidad, insomnio severo, hiperactividad, verborragia y actividad incontrolables y falta de juicio (Akiskal, 1995; Goodman, 1991).

La depresión es un trastorno mental que se caracteriza por el decaimiento del estado de ánimo. Es una enfermedad que puede afectar a niños, adolescentes, adultos y ancianos, con mayor incidencia entre el sexo femenino, que es más vulnerable por los cambios hormonales. Este padecimiento consiste principalmente en minar las características psicológicas, y hasta físicas de la persona, impidiéndole realizar sus actividades diarias ya que pierde todo entusiasmo por hacer las cosas, cambia su forma de ser, etc. La depresión no es siempre la misma en todos los casos, pues varía de duración e intensidad, por lo cual es difícil dar un diagnóstico a futuro, o cuanto tiempo durará (Goodman, 1991; Traskman *et al*, 1981).

2.6.3 Definición

Las dos clasificaciones más ampliamente aceptadas por la comunidad médica y científica internacional son la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10) y el DSM-IV. De acuerdo con el CIE-10 un episodio depresivo típico se caracteriza, tanto en los casos leves como moderados o graves, porque: "el paciente sufre un decaimiento del ánimo, con reducción de su energía y disminución de su actividad. Se deteriora la capacidad de disfrutar, el interés y la concentración, y es frecuente un cansancio importante, incluso después de la realización de esfuerzos mínimos. Habitualmente el sueño se halla perturbado, en tanto que disminuye el apetito. Casi siempre decaen la autoestima y la confianza en sí mismo, y a menudo aparecen algunas ideas de culpa o de ser inútil, incluso en las formas leves. El decaimiento del ánimo varía poco de un día al siguiente, es discordante con las circunstancias y puede acompañarse de los así llamados síntomas "somáticos", tales como la pérdida de interés y de los sentimientos placenteros, el despertar matinal con varias horas de antelación a la hora habitual, el empeoramiento de la depresión por las mañanas, el marcado retraso psicomotor, la agitación y la pérdida del apetito, de peso y de la libido. El episodio depresivo puede ser calificado como leve, moderado o grave, según la cantidad y la gravedad de sus síntomas" (Caraveo *et al*, 1999).

De acuerdo con la clasificación que plantea el DSM-IV "los trastornos del estado de ánimo están divididos en trastornos depresivos, trastornos bipolares y dos trastornos basados en la etiología: trastorno del estado de ánimo debido a enfermedad médica y trastorno del estado de ánimo inducido por sustancias. Los trastornos depresivos se distinguen de los trastornos bipolares por el hecho de no haber historia previa de episodio maníaco, mixto o hipomaníaco. Los trastornos bipolares implican la presencia de episodios maníacos, episodios

mixtos o episodios hipomaniacos, normalmente acompañados por la presencia de episodios depresivos mayores. El trastorno depresivo mayor se caracteriza por uno o más episodios depresivos mayores (al menos dos semanas de estado de ánimo depresivo o pérdida de interés acompañados por al menos otros cuatro síntomas de depresión). El trastorno distímico se caracteriza por al menos dos años en los que ha habido más días con estado de ánimo depresivo que sin él, acompañado de otros síntomas depresivos que no cumplen los criterios para un episodio depresivo mayor (Caraveo *et al*, 1999).

El trastorno depresivo no especificado se incluye para codificar los trastornos con características depresivas que no cumplen los criterios para un trastorno depresivo mayor, trastorno distímico, trastorno adaptativo con estado de ánimo deprimido o trastorno adaptativo con estado de ánimo mixto ansioso y depresivo o con síntomas depresivos sobre los que hay una información inadecuada o contradictoria. La característica básica del episodio depresivo mayor es un período de al menos dos semanas durante el que hay un estado de ánimo deprimido o una pérdida de interés o placer en casi todas las actividades. En los niños y adolescentes el estado de ánimo puede ser irritable en lugar de triste. El sujeto también debe experimentar al menos otros cuatro síntomas de una lista que incluye cambios de apetito o peso, del sueño y de la actividad psicomotora; falta de energía; sentimientos de infravaloración o culpa; dificultad para pensar, concentrarse o tomar decisiones y pensamientos recurrentes de muerte o ideación, planes o intentos suicidas. Los síntomas han de mantenerse la mayor parte del día, casi cada día, durante al menos dos semanas consecutivas. El episodio debe acompañarse de un malestar clínico significativo o de deterioro social, laboral o de otras áreas importantes de la actividad del individuo. En algunos sujetos con episodios leves la actividad puede parecer normal, pero a costa de un esfuerzo muy importante (Weissman *et al*, 1998).

El grado de incapacidad asociado a un episodio depresivo mayor es variable, pero hasta en los casos más leves ha de haber un malestar clínico significativo o deterioro social, laboral o de otras áreas importantes de la actividad del individuo. Si la incapacidad es grave, el sujeto puede perder su capacidad para relacionarse o trabajar. En casos extremos el sujeto puede ser incapaz de cuidar de sí mismo o de mantener una mínima higiene personal. Es esencial una buena entrevista clínica para descubrir los síntomas de un episodio depresivo mayor. La información puede verse comprometida por los problemas de concentración, el deterioro mnésico o la tendencia a negar, quitar importancia o justificar los síntomas. La información de otras fuentes puede ser especialmente relevante para clarificar el curso de los episodios depresivos mayores actuales o pasados y para valorar si ha habido episodios maníacos o hipomaniacos. La evaluación de los síntomas de un episodio depresivo mayor es especialmente difícil cuando se presentan en un sujeto que tiene además una enfermedad médica (cáncer, accidentes vasculares cerebrales, infarto de miocardio, diabetes). Algunos de los criterios de un episodio depresivo mayor son idénticos a los síntomas y signos característicos de las enfermedades médicas. Este tipo de síntomas se deben atribuir a un episodio depresivo mayor, excepto cuando son clara y completamente atribuibles a una enfermedad médica (Abrams *et al*, 1996).

Por definición, un episodio depresivo mayor no es debido a los efectos fisiológicos directos de las drogas, a los efectos secundarios de los medicamentos o a la exposición a

tóxicos. Así mismo, el episodio no es debido a los efectos fisiológicos directos de ninguna enfermedad médica. Además, si los síntomas empiezan antes de transcurrir dos meses de la pérdida de un ser querido y no persisten más allá de estos dos meses, generalmente se consideran resultado de un duelo, a menos que estén asociados a un deterioro funcional importante o incluyan preocupaciones mórbidas de inutilidad, ideación suicida, síntomas psicóticos o enlentecimiento psicomotor (Abrams *et al*, 1996; Caraveo *et al*, 1999).

2.6.4 Clasificación

Algunos pacientes con trastorno depresivo mayor exhiben características adicionales, lo que les confiere una respuesta al tratamiento y un pronóstico diferente, por tal motivo se les ha clasificado de la siguiente manera:

2.6.4.1 Trastorno depresivo mayor con características melancólicas

La Asociación Psiquiátrica Americana ha mantenido dentro de la clasificación del DSM-IV el diagnóstico de trastorno depresivo mayor con características melancólicas. Para este diagnóstico se requieren los criterios establecidos para el trastorno depresivo mayor y características adicionales que hacen referencia a una mayor severidad y endogenicidad (pérdida de reactividad a estímulos antes llamativos). El concepto de endógeno y reactivo fue utilizado ampliamente hasta finales de los setenta, y se buscaba diferenciar aquellos cuadros depresivos con poca participación de aspectos psicosociales, alteración marcada de pruebas biológicas y mayor respuesta a los antidepresivos (depresión endógena), de los que se presentaban en respuesta a situaciones psicosociales claramente determinadas, con pocas alteraciones en pruebas biológicas y de mayor respuesta a las psicoterapias (depresión reactiva). Otros síntomas que caracterizan este subtipo de depresión mayor son: empeoramiento matutino, insomnio temprano (al menos 2 horas antes de lo usual), marcado retardo o agitación psicomotora, anorexia significativa o disminución de peso (más del 5% del peso corporal en 1 mes y excesiva o inapropiada culpa (Asberg *et al*, 1984).

2.6.4.2 Trastorno depresivo mayor estacional

Se caracteriza por episodios depresivos que comienzan en el otoño o invierno y remiten en la primavera. Con metabolismo anormal de la melatonina por poca exposición solar y con ausencia de estresores sociales y psicológicos. Mínimo durante los últimos 2 años. Los episodios poseen criterios para depresión mayor o depresión atípica (65-85%) que se caracteriza por hiperfagia, hypersomnia, anergia, ganancia de peso, apetencia por carbohidratos y enlentecimiento psicomotor. Son frecuentes los antecedentes familiares de alcoholismo y depresión mayor (Michalon, 1993).

2.6.4.3 Trastorno depresivo mayor con características catatónicas

Los trastornos afectivos mayores son probablemente la causa más común de catatonía aguda. Partiendo de la presencia de signos motores como mutismo, estereotipia, posturismo, catalepsia, obediencia automática, negativismo, ecolalia/ecopraxia o estupor. El tratamiento más efectivo para la catatonía debida a trastornos afectivos es la TEC; sin embargo se reserva para pacientes en riesgo de deshidratación o muerte, que no acepten la vía oral o que no respondan a otros tratamientos con antidepresivos (Abrams *et al*, 1996).

2.6.4.4 Trastorno depresivo mayor con características atípicas

Se caracteriza por la presencia de síntomas atípicos que no son usualmente encontrados en la mayoría de los pacientes con trastorno depresivo mayor: remisión temporal en respuesta a ciertos estímulos (reactividad del ánimo), insomnio de conciliación, hipersomnia, empeoramiento vespertino, incremento del apetito y peso, aumento de la libido, ansiedad asociada, labilidad afectiva, disforia, marcada adinamia, hipersensibilidad al rechazo e inicio temprano. La alteración del sueño debido al insomnio de conciliación conduce a irritabilidad, hipersomnolencia y fatiga diurna, más común en mujeres con un 75%, pero al parecer sin diferencias en la raza, estado civil o nivel socioeconómico. Los sujetos presentan episodios caracterizados por su corta duración, mayor recurrencia, más angustia asociada, más comorbilidad y más retardo psicomotor. Se asocia a mayores tasas de abuso o dependencia de sustancias psicoactivas, al igual que trastornos de personalidad evitativa, pasivo-agresiva y obsesivo-compulsiva, a trastornos de ansiedad como la fobia social y al trastorno bipolar II y III (Abrams *et al*, 1996).

2.6.4.5 Depresión geriátrica

Se presenta 4 veces más con respecto a la población general con prevalencias de 14.6% en mujeres y 6.8% en hombres (27% en total). Por otro lado, el porcentaje de suicidios es 15 veces mayor en mayores de 65 años; los trastornos neurológicos o médicos latentes contribuyen a las bajas tasas de recuperación observadas en la depresión geriátrica. Esto es debido principalmente a la disponibilidad funcional disminuida de los neurotransmisores y a las pérdidas psicosociales propias de la edad como pérdida del esposo(a) y amigos, trabajo, status social y capacidades físicas y mentales. Con respecto al tratamiento, es imprescindible tener en cuenta que en el paciente geriátrico acontecen cambios fisiológicos que alteran el perfil de las drogas como disminución del metabolismo hepático y del aclaramiento renal, incremento de la proporción de grasa con riesgo de acumulación de sustancias lipofílicas, disminución de las proteínas con incremento de la porción libre de la droga, disminución de la absorción intestinal y del vaciamiento gástrico (Abrams *et al*, 1996).

2.6.4.6 Trastorno distímico

Trastorno depresivo menos severo que la depresión mayor en cuanto a la intensidad de los síntomas, pero más persistente en el tiempo (más de 2 años). Es una depresión crónica de inicio temprano (adolescencia), el paciente experimenta otros síntomas como alteraciones del sueño, fatiga, pérdida de la autoestima, trastornos de la concentración y sentimientos de desaprobación. A pesar de su menor severidad, los pacientes recurren en mayor proporción a la utilización de los servicios médicos, incluso cuando se le compara con otras patologías como diabetes, enfermedad coronaria, artritis, lumbalgias, enfermedades pulmonares o trastornos gastrointestinales. Los síntomas suelen ser el principal motivo de consulta, más que la depresión como tal: debilidad, malestar, letargia, fatiga, trastornos de concentración, disminución de la autoestima, sentimientos de desesperanza (López-Ibor, 1992).

2.6.4.7 Trastorno disfórico premenstrual

Consiste en síntomas depresivos, somáticos y comportamentales presentes en la mayoría de los ciclos menstruales, ocurriendo en la última semana de la fase luteal y remitiendo a los pocos días de haber terminado la menstruación. Los síntomas pueden ser tan

severos que alteren el rendimiento escolar u ocupacional. El inicio suele ser antes de los 30 años, tendiendo a empeorar con la edad o con el número de embarazos, pero resolviéndose espontáneamente después de los 45 años o la menopausia. Para su diagnóstico el DSM-IV ha propuesto varios criterios de investigación que incluyen la presencia de un afecto depresivo, ansioso y/o lábil, irritabilidad, disminución del interés, letargia, hiperfagia (con marcada apetencia por carbohidratos), alteraciones del sueño, sensación de pérdida de control y diversos síntomas físicos (American Psychiatric Association, 1995).

2.6.4.8 Depresión breve recurrente

Se caracteriza por la presentación de episodios de depresión mayor de 2 días a dos semanas de duración (1 a 3 días en el 90% de los casos), una vez por mes en los últimos 12 meses (en el 50% de los casos los episodios recurren cada 2 semanas) no asociados con los ciclos menstruales, ni a antecedentes de episodios depresivos mayores, ni a criterios para trastorno distímico. Cuando se asocia a depresión mayor se denomina depresión combinada. Los pacientes pueden presentar trastorno de personalidad o abuso de sustancias psicoactivas. El curso del trastorno es variable. De todos los pacientes que presentan una DBR, 53% no presentarán un diagnóstico de depresión en por lo menos 7 años posteriores. Un 29% continuarán presentando el trastorno, 13% desarrollarán una depresión mayor sola, 6% presentarán una depresión combinada y 4% presentarán un triple diagnóstico (DBR + depresión mayor + distimia o depresión menor) (López-Ibor, 1992).

2.6.4.9 Depresión psicótica

La depresión psicótica (delirante) es una forma severa de trastorno afectivo caracterizada por delirios o alucinaciones. Algunos autores piensan que la depresión delirante o psicótica debe ser considerada como una entidad clínica diferenciada, cualitativamente diferente del trastorno depresivo mayor; para ello se apoyan en hallazgos de importantes diferencias en cuanto a la clínica, hallazgos biológicos, diferente respuesta farmacológica y consistencia del diagnóstico a través del tiempo. En general, los pacientes con depresión psicótica siguen un patrón de enfermedad crónica y presentan un alto número de reingresos durante el primer año post-hospitalización por causas psiquiátricas o médicas generales. La depresión delirante afecta a un 10 a 25% de los pacientes con depresión mayor. La depresión psicótica también es de mayor prevalencia en el sexo femenino, con proporciones del 73.1% vs 26.9% en favor del sexo femenino (Aronson *et al*, 1988).

2.6.4.10 Depresión secundaria

Los trastornos psiquiátricos son más prevalentes en pacientes con afecciones médicas generales, y los mismos pueden afectar la evolución de dichas afecciones. Debido a que es difícil determinar cuáles son los síntomas propios de la enfermedad subyacente y cuáles son los propios de la depresión, es preciso llevar a cabo una cuidadosa evaluación de múltiples factores para establecer el diagnóstico de depresión secundaria y evitar el riesgo de subdiagnosticar o sobrediagnosticar (López-Ibor, 1992).

La incidencia de un episodio depresivo mayor en pacientes con cáncer, ECV, enfermedad de Parkinson, y otras patologías no psiquiátricas suele ser mucho mayor que la observada en la población general, lo que indica que estas patologías comprometen seriamente

el equilibrio neuroquímico responsable del mantenimiento de la eutimia. La utilización de ciertos medicamentos también puede incrementar el riesgo de un episodio depresivo mayor. La depresión puede presentarse hasta en el 22% a 33% de pacientes hospitalizados por causas médicas no psiquiátricas (López-Ibor, 1992).

A. ECV (Enfermedad Cerebro Vascular)

Parece predisponer a la depresión en un 30% a 47% de los afectados, cifra que puede incrementarse a medida que transcurre el tiempo desde el episodio cerebrovascular (hasta 2 años después). Los pacientes con depresión post-ECV tienen 3.4 veces más riesgo de morir. El diagnóstico se dificulta muchas veces por la presencia frecuente de alteraciones severas del lenguaje (afasias), labilidad emocional inapropiada; por este motivo, deben tenerse en cuenta síntomas tales como ansiedad, agitación, disminución del apetito o peso, insomnio, poca cooperación con los programas de rehabilitación, falta de cuidado personal, deterioro de un déficit neurológico ya estable (Abrams *et al*, 1996).

B. Otras patologías neurológicas

Se reporta una alta prevalencia de depresión en entidades como la enfermedad de Parkinson con tasas cercanas al 29% a 50% y debida posiblemente a reducción de los niveles de serotonina cerebral como lo sugiere la disminución de su metabolito en LCR y manifestada como sentimientos de tristeza, desesperanza, culpa, inutilidad, ideación suicida y desinterés y otros síntomas como irritabilidad, trastornos de memoria, insomnio, pérdida de apetito y síntomas somáticos. La enfermedad de Wilson, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Huntington, la enfermedad de Alzheimer y el compromiso del SNC por el VIH son causas frecuentes de depresión secundaria. También traumas craneoencefálicos, el hematoma subdural, las infecciones cerebrales (meningitis, encefalitis, HIV, sífilis), entre otras afecciones se deben de tener en cuenta (Abrams *et al*, 1996).

C. Cáncer

Son de consideración los tumores cerebrales primarios, el cáncer pancreático y el cáncer de pulmón. Debe tenerse en cuenta que los pacientes con cáncer tienen dos veces más riesgo de suicidio que la población general. La depresión disminuye la función inmunitaria y permite la progresión del cáncer (James *et al*, 1994).

D. Enfermedades cardíacas

La prevalencia de depresión mayor en pacientes que han sufrido un infarto del miocardio hace 6 a 12 meses es del 20% al 30%. La depresión mayor constituye un factor de riesgo para mortalidad de equiparables proporciones a una disfunción del ventrículo izquierdo y a una historia de infarto del miocardio anterior (James *et al*, 1994).

E. Trastornos endocrinos

En la enfermedad de Cushing 86% de los pacientes se deprimen debido al incremento de glucocorticoides, en la enfermedad de Addison, hiper e hipotiroidismo, hiper e hipoparatiroidismo, falla ovárica o testicular, síndrome de enfermedad eutiroidea, hiper e hiperglicemia también se presenta depresión (James *et al*, 1994).

F. Consumo de medicamentos u otras sustancias

Los antihipertensivos que depletan las vesículas presinápticas de noradrenalina o que impiden su liberación, se han asociado a la presentación de síndromes depresivos; entre ellos están la α -metil-dopa, reserpina, guanetidina, clonidina y β -bloqueadores a dosis altas. Otros medicamentos que pueden llevar a la depresión son los antihistamínicos tipo H₂, los agentes anticolinérgicos como la atropina, el trihexifenidil y la benzotropina, los corticoesteroides, los esteroides anabólicos, los anticonceptivos orales, danazol, AINEs son ejemplos de medicamentos que llevan a la depresión. Entre las drogas de abuso se incluyen la intoxicación por alcohol e hipnosedantes y la abstinencia a la nicotina, cafeína, cocaína, marihuana y anfetaminas (Abrams *et al*, 1996).

2.6.5 Neurotransmisores y receptores

Al parecer, el principal mecanismo implicado es la disminución de aminas biogénicas (noradrenalina, serotonina y dopamina) y los efectos que tal disminución conlleva a nivel de las neuronas postsinápticas, quienes por carecer de un estímulo adecuado, no conducen a la activación necesaria de enzimas y genes que garantizan un estado eutímico. Las neuronas serotoninérgicas parten del rafe medio y las noradrenérgicas del locus coeruleus a nivel del tallo cerebral, proyectándose a diferentes estructuras del cerebro anterior, amígdala, hipocampo, hipotálamo, cuerpos mamilares, núcleo accumbens y corteza cerebral; esto explicaría los síntomas asociados a la depresión como pérdida del apetito, insomnio, pérdida del interés, disminución de la concentración y comportamiento o ideación suicida, cuando se comprometen tales proyecciones neuronales. A pesar de ello aún no se ha podido demostrar, después de más de tres décadas, que la deficiencia o exceso de tales aminas biogénicas sea necesario o suficiente para la presentación de los trastornos del estado de ánimo (Akiskal, 1995).

Se ha demostrado que el 5-HIAA (ácido 5-hidroxi-indol-acético), metabolito de la serotonina, está significativamente disminuido en el LCR de pacientes deprimidos y que los receptores de 5-HT₂ están incrementados en las plaquetas y en la membrana postsináptica de neuronas del lóbulo frontal de los pacientes deprimidos (en especial de aquellos con comportamiento suicida). Adicionalmente se han detectado anormalidades en los transportadores de serotonina a nivel plaquetario consistentes en un número reducido y un déficit en el transporte del neurotransmisor. El compromiso del transportador de serotonina a nivel plaquetario da cuenta de su alteración a nivel cerebral, ya que la similitud de los transportadores plaquetarios y neuronales ha sido demostrada en humanos. Por lo tanto se sospecha que los pacientes deprimidos presentan una deficiencia funcional de la actividad serotoninérgica presináptica (Asberg *et al*, 1984; Nemeroff *et al*, 1996; Traskman *et al*, 1981).

Con respecto al papel de la noradrenalina, se ha encontrado que los niveles del metabolito 3 metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG) en orina están disminuidos únicamente durante los episodios y especialmente en los pacientes con marcado retardo psicomotor e insomnio tardío, pero sin ser un hallazgo constante en todos los pacientes, lo que lo hace un débil marcador biológico de estado. Sin embargo, otros autores sostienen lo contrario al

encontrar altas correlaciones entre los bajos niveles de MHPG en orina y la respuesta a imipramina, nortriptilina y maprotilina (Beckmann *et al*, 1975; Hollister *et al*, 1980; Samson *et al*, 1994).

Esto ha permitido incluso postular tres tipos de depresiones según el nivel de MHPG en orina: subtipo I (bajos niveles pretratamiento por disminución en la síntesis o liberación de noradrenalina con mejores respuestas a la imipramina, desipramina, nortriptilina o maprotilina), subtipo II (niveles intermedios, con producción y liberación normal de noradrenalina pero alteraciones en otras vías neuronales) y subtipo III (altos niveles por liberación elevada de noradrenalina debida a alteraciones en receptores postsinápticos y a un incremento de la actividad colinérgica y de la liberación de CRH; con mejores respuestas a amitriptilina o alprazolam). Por otro lado, Janowsky y col. descubrieron que las neuronas colinérgicas son antagonistas de las catecolaminérgicas y por ello deben mantener un adecuado equilibrio para el control del estado de ánimo. Los fármacos con propiedades colinérgicas pueden inducir depresiones o exacerbarlas y disminuir la intensidad de los episodios maníacos, sugiriéndose que los pacientes deprimidos pueden tener una hipersensibilidad en los receptores colinérgicos y que por ello responderían satisfactoriamente a cualquier tipo de ADT (Janowsky *et al*, 1972; Schatzberg *et al*, 1982).

En cuanto a los receptores, varios estudios han demostrado una hipersensibilidad de los receptores α_2 plaquetarios en pacientes deprimidos. El tratamiento con antidepresivos ha sido asociado a una disminución en la densidad y sensibilidad de estos receptores. Desde finales de los sesenta se conocía que la deficiencia serotoninérgica produce síntomas depresivos. Prange formuló la hipótesis que el déficit de serotonina permite la expresión de los estados depresivo o maníaco mediados por catecolaminas. Las neuronas serotoninérgicas al ser estimuladas por diferentes mecanismos parecen desinhibir a las noradrenérgicas, lo que conduce a una desensibilización de receptores adrenérgicos postsinápticos β y presinápticos α_2 (García-Sevilla, 1989; López-Ibor, 1992; Prange *et al*, 1974).

Las teorías biopsicosociales sostienen que factores psicológicos, biológicos y sociales convergen en déficits reversibles en los substratos diencefálicos de placer y recompensa. Así, las pérdidas objetales, la disminución de la autoestima, el desarrollo de esquemas cognitivos negativos o la desesperanza aprendida, aunque no determinan por sí mismas la aparición de un trastorno depresivo, pueden modificar su expresión y conducir a un inicio más temprano, episodios más severos, comorbilidad con trastornos de personalidad y mayores intentos suicidas. Un estilo de vida adverso como embarazo en la adolescencia, relaciones interpersonales violentas y un sistema de soporte económico y emocional pobre pueden contribuir a la aparición de los trastornos depresivos (Akiskal, 1995).

Para el diagnóstico de un trastorno depresivo mayor se requiere de la presencia de alteraciones cognitivas, psicomotrices, afectivas y vegetativas. El trastorno generalmente se presenta en forma de episodios que duran 3 a 12 meses sin tratamiento (8 meses en promedio) y recidivan cada 5 años (56-76%) con 5 episodios en promedio a lo largo de la vida; cerca de dos tercios de los casos pueden resolverse completamente, incluso sin

consecuencias para su status económico cuando los episodios son leves o moderados. Dos tercios de los pacientes con trastorno depresivo mayor presentarán recurrencias en algún momento de su vida, con síntomas residuales de intensidad variables entre los episodios. Las mujeres desarrollan más depresiones recurrentes con episodios más prolongados. El mayor riesgo de recurrencia puede depender también de: historia familiar, inicio temprano, síntomas melancólicos, distimia, edad mayor en episodio actual, persistencia de las alteraciones en la polisomnografía (Frank *et al*, 1984).

2.6.6 Factores asociados a la enfermedad

2.6.6.1 Genéticos

Los datos indican que existen factores genéticos implicados claramente en el desarrollo de los trastornos del estado de ánimo. El componente genético desempeña un papel más importante en la transmisión del trastorno bipolar I, que en la del trastorno depresivo mayor. Los estudios familiares han confirmado de manera repetida que los familiares de primer grado de los pacientes con un trastorno bipolar I tienen una probabilidad de sufrir este trastorno entre 8 y 18 veces superior a la de los familiares de primer grado de sujetos control y de 2 a 10 veces más de padecer un trastorno depresivo mayor. Estos estudios también han encontrado que la probabilidad de que los familiares de primer grado de sujetos con un trastorno depresivo mayor padezcan un trastorno bipolar I es de 1.5 a 2.5 veces superior a la de los familiares de primer grado de sujetos control y es de dos hasta tres veces más probable que sufran un trastorno depresivo mayor. También han señalado que la probabilidad de sufrir trastornos del estado de ánimo decrece a medida que se aleja el grado de parentesco (Blacker *et al*, 1987; Hebebrand, 1992; McGuffin *et al*, 1996; Nurnberger *et al*, 1992; Weissman *et al*, 1992).

La heredabilidad del trastorno bipolar también ha sido corroborada por el hecho de que el 50% de los pacientes con este trastorno tienen por lo menos un familiar con un trastorno del estado de ánimo, generalmente un trastorno depresivo mayor. Si uno de los padres sufre un trastorno bipolar I, existe una probabilidad del 25% de que alguno de los hijos sufra un trastorno del estado de ánimo; si ambos padres padecen un trastorno bipolar I, existe una probabilidad del 50 al 75% de que su hijo desarrolle un trastorno del estado de ánimo. Los estudios con gemelos han mostrado que la tasa de concordancia entre gemelos monocigóticos para el trastorno bipolar I oscila entre el 33% y el 90%, dependiendo de cada estudio en particular; para el trastorno depresivo mayor, la concordancia entre gemelos monocigóticos es aproximadamente de un 50%. En contraste, la concordancia entre gemelos dicigóticos oscila entre el 5% y el 25% para el trastorno bipolar I y entre el 10% y el 25% para el trastorno depresivo mayor (Blacker *et al*, 1987).

2.6.6.2 Psicosociales

Una observación clínica clásica, reiteradamente confirmada, indica que los acontecimientos estresantes preceden con más frecuencia a los primeros episodios de trastornos del estado de ánimo que a los episodios posteriores. Esta asociación se ha puesto de manifiesto tanto en el trastorno depresivo mayor como en el trastorno bipolar I. Una de las

teorías propuestas para explicar esta observación es que el estrés que acompaña al primer episodio produce cambios a largo plazo en la biología cerebral. Estos cambios de larga duración pueden producir variaciones en el funcionamiento de diferentes neurotransmisores y sistemas de señales intraneuronales y una disminución exagerada de conexiones sinápticas (Akiskal, 1995).

2.6.6.3 Grupos de riesgo

Esta enfermedad afecta a un 10% de los hombres y a un 20% de las mujeres en algún momento de la vida. En un periodo determinado, alrededor del 2.5% de los hombres y del 8% de las mujeres se encuentran deprimidos en forma activa. Se observan síntomas depresivos significativos hasta en el 36% de todos los pacientes clínicamente enfermos. Aquellos que sufren demencia, diabetes, afección cardíaca e insuficiencia renal, presentan tasas especialmente altas de depresión comórbida. En los grupos más jóvenes, la depresión incrementa el riesgo de alcoholismo, abuso de drogas y suicidio; mientras que en los grupos de personas más viejas aumenta el riesgo de mortalidad por una enfermedad clínica preexistente. Cerca del 60% de todos los suicidios están relacionados con depresión importante y, eventualmente, el 15% de las personas en estado depresivo que ingresa a un hospital psiquiátrico comete suicidio (Weissman *et al*, 1998).

2.6.6.4 Manifestaciones clínicas de la enfermedad depresiva

La depresión es un desorden que casi siempre se presenta de manera oculta, con fatiga crónica, dolor o quejas somáticas no específicas. El estado depresivo puede ser evidente o puede manifestarse como indiferencia o flojera, incomodidad, "nervios", agitación o irritabilidad. Por esto último se requiere un conocimiento adecuado, ya que muchos síntomas presentes pueden ser depresivos y no una afección de otro tipo. Existen dos patrones sintomáticos básicos en los trastornos del ánimo, uno para la depresión y otro para la manía (Weissman *et al*, 1998).

Como se mencionó anteriormente y de acuerdo con el DSM-IV los criterios para el episodio depresivo mayor son:

- A.** Presencia de cinco o más de los siguientes síntomas durante un período de 2 semanas:
- Estado de ánimo deprimido la mayor parte del día, casi cada día según lo indica el propio sujeto (por ejemplo, se siente triste o vacío) o la observación realizada por otros (por ejemplo, llanto). En los niños y adolescentes el estado de ánimo puede ser irritable.
 - Disminución acusada del interés o de la capacidad para el placer en todas o casi todas las actividades, la mayor parte del día, casi cada día (según lo refiere el propio sujeto u observan los demás).
 - Pérdida importante de peso sin hacer régimen o aumento de peso por ejemplo, un cambio de más del 5% del peso corporal en un mes) o la pérdida o aumento del apetito casi cada día. En los niños hay que valorar el fracaso en lograr los aumentos de peso esperables.
 - Insomnio o hipersomnia casi cada día.
 - Agitación o enlentecimiento psicomotores casi cada día (observable por los demás, no meras sensaciones de inquietud o de estar enlentecido).

- Fatiga o pérdida de energía casi cada día.
- Sentimientos de inutilidad o de culpa excesiva o inapropiados (que pueden ser delirantes) casi cada día (no simples autorreproches o culpabilidad por el hecho de estar enfermo).
- Pensamientos recurrentes de muerte (no sólo temor a la muerte), ideación suicida recurrente sin un plan específico o una tentación de suicidio o un plan específico para suicidarse.

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

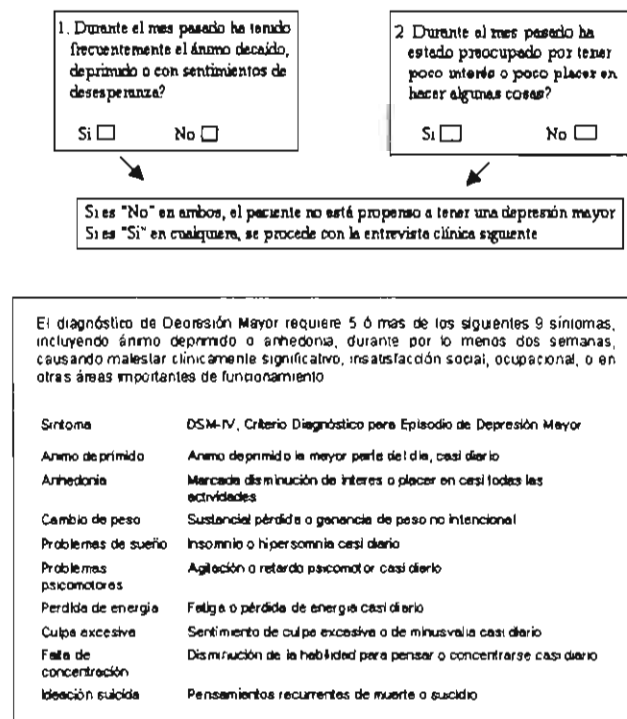
C. Los síntomas provocan malestar significativo o deterioro social, laboral o de otras áreas importantes de la actividad del individuo.

D. Los síntomas son debidos a los efectos fisiológicos directos de una sustancia (por ejemplo, una droga, hipotiroidismo).

E. Los síntomas no se explican mejor por la presencia de un duelo (por ejemplo, después de la pérdida de un ser querido), los síntomas persisten durante más de dos meses o se caracterizan por una acusada incapacidad funcional, preocupaciones mórbidas de inutilidad, ideación suicida, síntomas psicóticos o enlentecimiento psicomotor (Weissman *et al*, 1998).

Los médicos de primer nivel juegan un papel muy importante en el diagnóstico y tratamiento de los trastornos depresivos y, consecuentemente, en la prevención del suicidio. En la Figura No. 6, se presenta un formato que permite facilitar el diagnóstico de la depresión (Dirección General de Enseñanza en Salud, 1999).

Figura No. 6, Formato para el diagnóstico de la depresión mayor (DSM-IV)



(Fuente: Dirección General de Enseñanza en Salud, SSA, 1999)

2.6.6.5 Comorbilidad

De acuerdo al DSM-IV el trastorno depresivo mayor puede asociarse a enfermedades médicas crónicas. Hasta un 20-25% de los sujetos con determinadas enfermedades médicas (por ejemplo, diabetes, infarto de miocardio, carcinomas, accidentes vasculares cerebrales) presentarán un trastorno depresivo mayor a lo largo del curso de su enfermedad médica. Además, la depresión puede conducir a una importante morbilidad psicosocial con un menor funcionamiento en roles ocupacionales. La depresión está asociada con un aumento en la morbilidad de casi todas las enfermedades fisiológicas, incluyendo las enfermedades cardiovasculares y los problemas respiratorios, así como a un incremento en el índice de muerte repentina por una causa cardiovascular (Weissman *et al*, 1998).

A. Suicidio

En México, se ha encontrado que el grupo de 15-19 años es el que presenta una tasa mayor de suicidios, siendo para los hombres la tasa de suicidio consumado mayor que la de intento de suicidio. En las mujeres también se observa el mismo fenómeno, sin embargo los varones presentan las tasas más altas de suicidio consumado en comparación con las mujeres, mientras que éstas presentan una tasa mayor de intento de suicidio. Alrededor del 70% de los suicidios ocurre en pacientes con una historia de enfermedad crónica, por ejemplo, las tasas suicidas en personas con SIDA, son de 21 a 36 veces más que en la población general (Caraveo *et al*, 1999).

2.7 ANTIDEPRESIVOS TRICÍCLICOS (ADTs)

2.7.1 Generalidades

Actualmente la imipramina, la amitriptilina, sus derivados N-desmetil y otros compuestos estrechamente relacionados son los agentes más ampliamente utilizados para el tratamiento de la depresión mayor. Los ADTs poseen una estructura química similar formada por tres anillos (dibenzepina), como se muestran en la Figura No. 7, que no posee actividad alguna. Se clasifican en aminas terciarias, los cuales poseen un nitrógeno terminal desmetilado y presentan mayores efectos adversos que las aminas secundarias, los cuales presentan un nitrógeno terminal monometilado y son más potentes inhibidores de la recaptación de noradrenalina. Debido a su estructura a menudo se denominan antidepresivos “tricíclicos”. Su eficacia para aliviar la depresión mayor está bien establecida y ha aumentado su uso para otros trastornos psiquiátricos (Goodman, 1991).

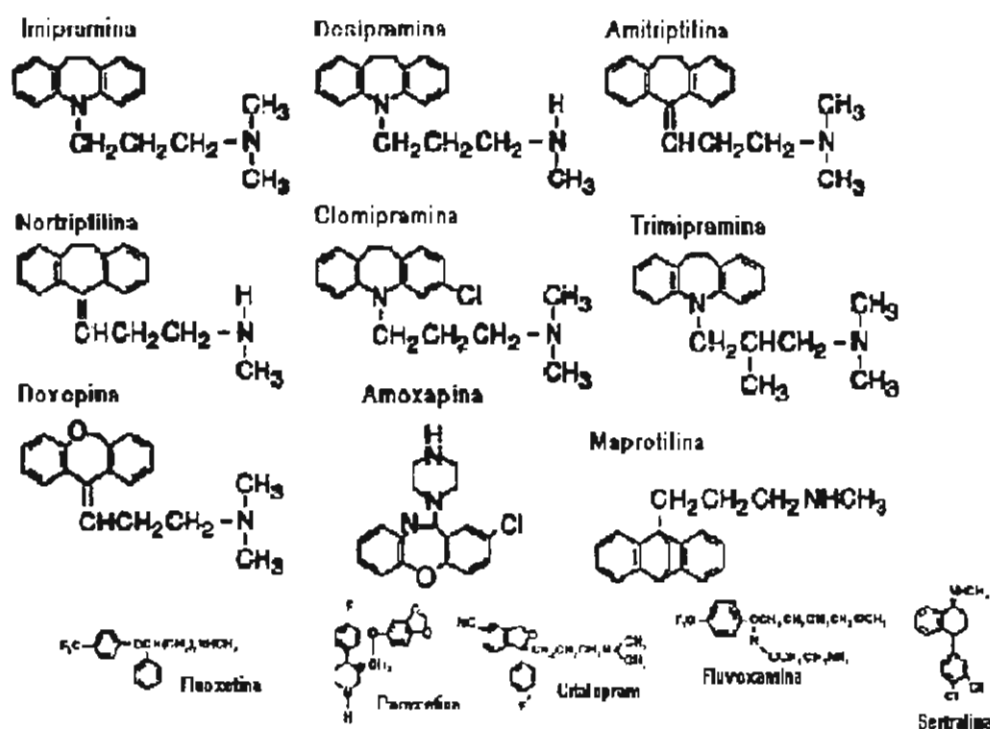


Figura No. 7, Estructuras químicas de antidepresivos tricíclicos.
(Fuente: <http://www.psicofarmacologia.bizland.com>)

2.7.2 Historia

Hacia finales de la década de los cuarenta, Häfliger y Schindler sintetizaron una serie de más de 40 derivados del iminodibencilo para ser potencialmente usados como antihistamínicos, sedantes, analgésicos o antiparkinsonianos. Uno de estos agentes fue la imipramina. Después de las pruebas de selección efectuadas en animales, se seleccionaron unos pocos compuestos, entre los que figuraba la imipramina, por sus propiedades sedantes o hipnóticas, para efectuar ensayos terapéuticos. Durante las investigaciones clínicas de estos análogos de la fenotiazina, Kuhn (1958) descubrió por casualidad que, a diferencia de las fenotiazinas, la imipramina era relativamente ineficaz para calmar a los pacientes psicóticos agitados. En cambio, parecía conferir beneficios notables a algunos pacientes deprimidos. Desde entonces se ha acumulado una evidencia indiscutible sobre la efectividad de este compuesto (Goodman, 1991; Hollister, 1978).

Desde el descubrimiento de los psicofármacos en la década de los cincuenta, se presentó una variada y extensa evidencia que soportaba la hipótesis de que los antidepresivos tricíclicos actuaban sobre las catecolaminas (principalmente noradrenalina) incrementándolas o potenciándolas a nivel central y permitiendo la estimulación compartamental o la excitación y un efecto antidepresivo en el hombre. Se proponía entonces que algunas, si no todas las depresiones, se asocian a una absoluta o relativa deficiencia de catecolaminas, particularmente noradrenalina (Herrington *et al.*, 1981).

2.7.3 Metabolismo

Los antidepresivos tricíclicos tienen buena absorción oral, con niveles plasmáticos de 2 a 8 horas, aunque este máximo puede demorarse hasta las 12 horas, con alta unión a proteínas y tejidos, biodisponibilidad del 50% a 60% en promedio, metabolismo hepático por oxidación (microsomal), desmetilación (*CYP1A2*, *CYP2C19* y *CYP3A3/4*), hidroxilación aromática (*CYP2D6*) y conjugación del metabolito hidroxilado (activo), que varía de un individuo a otro (metabolizadores lentos o rápidos). Menos del 5% se excretan sin cambio. La enfermedad hepática, la disfunción ventricular cardíaca derecha (congestión hepática) y la intoxicación alcohólica (que reduce el metabolismo hepático) pueden alterar el metabolismo de estos medicamentos. Los niveles plasmáticos permiten establecer dosis terapéuticas ya que son compatibles con niveles cerebrales. La determinación de los niveles plasmáticos debe hacerse no sólo para el fármaco administrado sino también para sus metabolitos desmetilados e hidroxilados, los cuales también poseen actividad farmacológica y logran penetrar adecuadamente al tejido cerebral. Esta determinación es justificada por el hecho de que los pacientes que consumen ADTs exhiben una variabilidad de hasta 30 veces en la tasa de aclaramiento hepático, de tal manera que una dosis similar puede producir diferentes concentraciones (subterapéuticas, terapéuticas o tóxicas) según el paciente (Preskorn *et al*, 1991).

Los ADTs exhiben una farmacocinética lineal en la mayoría de los pacientes, de tal forma que los cambios en la dosificación se correlacionan con los cambios en los niveles plasmáticos (Preskorn *et al*, 1991).

El metabolismo hepático y la alta liposolubilidad y unión a proteínas de los ADTs, producen un marcado nivel de variabilidad interindividual en los factores farmacocinéticos que regulan los niveles plasmáticos y que hacen de la medición de los mismos una herramienta útil en la búsqueda de una dosis óptima para un apropiado efecto terapéutico. Una vez absorbidos, estos agentes lipofílicos se distribuyen ampliamente, se unen fuertemente a las proteínas plasmáticas y a constituyentes tisulares (Preskorn *et al*, 1991).

Puede esperarse que estos fármacos produzcan efectos tóxicos cuando sus concentraciones plasmáticas superan 1 µg/mL e incluso pueden llegar a presentarse con la mitad de este valor. La mayoría de los antidepresivos tricíclicos deben ser inactivados y excretados en el curso de la semana siguiente a la finalización del tratamiento, con excepciones importantes. Los antidepresivos son metabolizados en forma más rápida por los niños y más lenta por pacientes mayores de 60 años (Amsterdam *et al*, 1980; Preskorn *et al*, 1991).

2.7.4 Mecanismo de acción

Todos los antidepresivos tricíclicos potencian la acción de las aminas biogénicas en el SNC mediante el bloqueo de su medio principal de inactivación fisiológica: la recaptación de sus terminales nerviosas. Sin embargo, la potencia y la selectividad para la inhibición del transporte neuronal (captación) de la noradrenalina, la 5-HT y la dopamina varía mucho entre los distintos agentes (Goodman, 1991).

La hipótesis del falso receptor fue el primer intento por trascender las fronteras de la sinápsis, pues proponía que el hipotético defecto en la depresión no subyacía en una alteración en la síntesis o metabolismo de catecolaminas, sino a nivel del receptor, el cual era bloqueado por un "falso transmisor" o una sustancia inhibitoria. Posteriormente, y en apoyo a la teoría catecolaminérgica, se observó que algunos antidepresivos disminuían la función de los autoreceptores α_2 -adrenérgicos presinápticos encargados de regular la tasa de recambio de las catecolaminas, la mayoría disminuían la densidad y función de los receptores β -adrenérgicos postsinápticos y casi todos incrementaban el nivel de respuesta de los receptores α_1 -adrenérgicos postsinápticos. Se observaba también que algunos antidepresivos podían disminuir la unión de la dopamina a los receptores D_1 en áreas límbicas y la función de autoreceptores dopaminérgicos, incrementando la sensibilidad de receptores D_2 en núcleo accumbens (Hollister, 1978).

Desde el punto de vista sináptico, los más importantes efectos de los antidepresivos consisten en el bloqueo de la recaptación de neurotransmisores, el bloqueo de ciertos receptores y la inhibición de la monoaminoxidasa. El bloqueo sostenido de la recaptación de monoaminas por ADTs, ISRS, bupropión, reboxetina o venlafaxina, disminuye los efectos de los neurotransmisores en algunos de sus receptores debido a fenómenos de desensibilización y regulación a la baja (disminución de la afinidad y el número de receptores, respectivamente). El bloqueo de receptores (principalmente H_1 , α_2 , 5-HT $_2A$ o D_2) por los ADTs, nefazodona, trazodona o mirtazapina, puede dar cuenta del efecto antidepresivo o de efectos adversos no relacionados con la acción antidepresiva. Los efectos sinápticos agudos (por incremento del neurotransmisor a nivel sináptico o por el bloqueo de algunos receptores) se presentan rápidamente, pocas horas después de la administración del antidepresivo, a diferencia del efecto terapéutico que se presenta al cabo de 2 a 6 semanas (Hollister, 1978; Preskorn *et al*, 1991).

La acción de los antidepresivos, al incrementar en primera instancia la serotonina o la noradrenalina a nivel sináptico, consiste en "estimular" los mecanismos homeostáticos anormales de las neuronas produciendo adaptaciones terapéuticas que llevan a alteraciones sustanciales y duraderas en la función neuronal y por lo tanto, a un nuevo estado funcional. Con la administración prolongada de antidepresivos o terapia electroconvulsiva se presentan significativas adaptaciones como la disminución en el número de receptores β -adrenérgicos postsinápticos y 5-HT presinápticos (desensibilización y regulación a la baja) y normalización de las tasas de disparo de las neuronas aminérgicas. Entre el grupo de los bloqueadores del transporte de la noradrenalina, la desipramina es uno de los agentes más potentes, como se muestra en la Figura No. 8, pero es menos potente como inhibidor del transporte de la 5-HT (Hollister, 1978; Preskorn *et al*, 1991; Stahl, 1998).

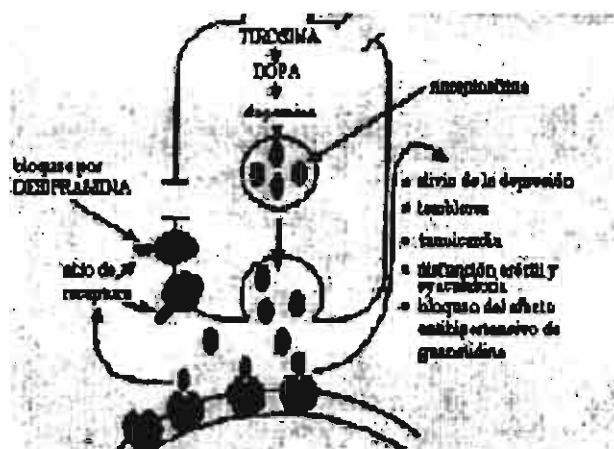


Figura No. 8. Sitios de recaptura de la norepinefrina bloqueados por desipramina.
(Fuente: <http://www.wpsicofarmacologia.bizland.com>)

La amitriptilina inhibe la captación de 5-HT y noradrenalina. La clomipramina es un bloqueador potente y bastante selectivo del transporte de 5-HT. Ninguno de estos agentes es muy efectivo en el transporte de dopamina. En contraste, la mayoría de los antidepresivos estimulantes tricíclicos ejercen acciones poco selectivas sobre la captación de noradrenalina y dopamina (Goodman, 1991; Preskorn *et al*, 1991).

Las áreas corticales contienen relativamente pocos sitios de recaptación de serotonina, mientras la sustancia nigra y los núcleos del rafe (áreas somatodendríticas) poseen una alta capacidad para la recaptación de serotonina. El mecanismo de acción de los antidepresivos podría ser planteado como una secuencia de eventos: 1) incremento de noradrenalina y/o serotonina en el espacio sináptico por inhibición de los transportadores (en el caso de los inhibidores de la recaptación de aminas), 2) estímulo y posterior desensibilización de autoreceptores 5-HT o α_2 que inhiben las tasas de disparo de las neuronas serotoninérgicas y noradrenérgicas, 3) incremento de serotonina y noradrenalina en el espacio sináptico tras la desensibilización y disminución de los receptores 5-HT y α_2 que permiten un incremento de las tasas de recambio de las neuronas aminérgicas, 4) estimulación de receptores postsinápticos diversos, 5) activación de los mecanismos intraneuronales de transcripción y transducción de señales, 6) desensibilización de receptores 5-HT₂ y β -adrenérgicos que más que constituir el mecanismo de acción de estos medicamentos, son marcadores de su actividad, 7) expresión de genes comprometidos en el mantenimiento del ánimo normal (Preskorn *et al*, 1991).

El efecto terapéutico aparece sólo a las 2 a 3 semanas, al parecer el tiempo que requieren las neuronas postsinápticas para la creación de nuevos receptores o la modificación de sus propiedades en sus membranas, a partir del estímulo continuo con una mayor cantidad de neurotransmisores derivados de la acción farmacológica. La fluoxetina, es un potente inhibidor en la recaptura de 5-HT y del mismo modo es un inhibidor potente de la CYP2D6. En la Figura No. 9, se muestran los sitios de recaptura de serotonina bloqueados por la fluoxetina (Stahl, 1998).

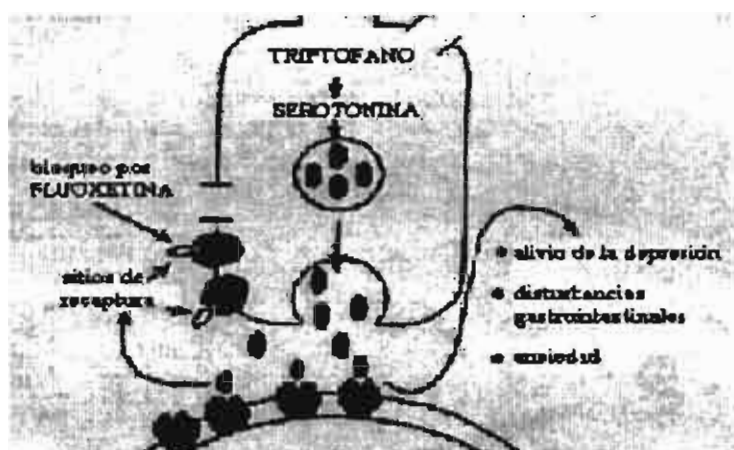


Figura No. 9, Sitios de recaptura de serotonina bloqueados por fluoxetina.
(Fuente: <http://wwwpsicofarmacologia.bizland.com>)

El bloqueo del transporte de dopamina parece estar más asociado con la actividad estimulante que con la antidepresiva. La inhibición de la captación de 5-HT puede muy bien contribuir a la actividad antidepresiva al igual que las acciones inhibitorias sobre la captación de noradrenalina que parecen corresponder con la actividad antidepresiva. La reducción aguda en la retroalimentación y liberación de la noradrenalina, asociada con una sensibilidad sostenida o incrementada a los agonistas α_1 -adrenérgicos durante el tratamiento antidepresivo, puede conducir a un eventual aumento de la eficacia de la transmisión a través de los receptores α_1 postsinápticos (Preskorn *et al*, 1991; Stahl, 1998).

Los antidepresivos tricíclicos también actúan como antagonistas de los receptores para varias neurohormonas como se muestra en la Figura No. 10, incluyendo receptores muscarínicos colinérgicos, α_1 -adrenérgicos y H_1 - y H_2 -histaminérgicos, con actividad moderada a alta (Stahl, 1998).

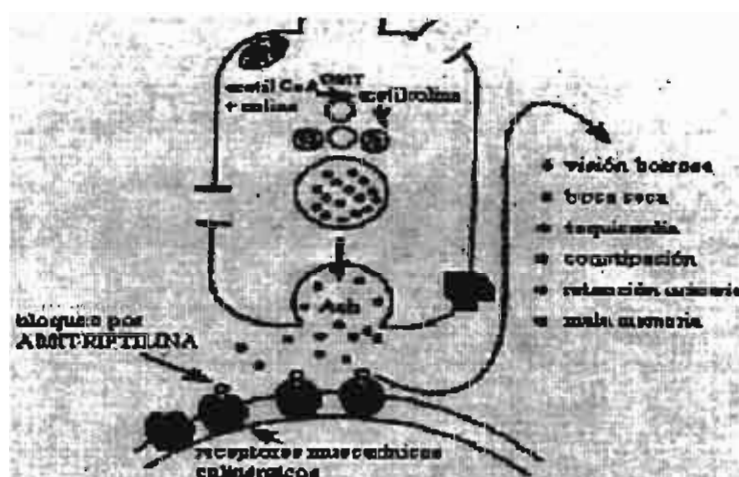


Figura No. 10, Propiedades anticolinérgicas de la amitriptilina.
CHAT= acetil colinasa, Ach= acetil colina.
(Fuente: <http://wwwpsicofarmacologia.bizland.com>)

En general, los antidepresivos tricíclicos bloquean la recaptación de aminas neurotransmisoras en forma no selectiva (incrementan las catecolaminas como serotonina y noradrenalina). También bloquean los receptores muscarínicos (M_1), histaminérgicos (H_1 más que H_2), α_1 -adrenérgicos y dopaminérgicos (D_2) responsables de los efectos adversos como: constipación, visión borrosa y boca seca (M_1); ganancia de peso y somnolencia (H_1); mareo, hipotensión y somnolencia (α_1) y leves efectos extrapiramidales (D_2). A su vez, inhiben los canales de sodio y la propagación del impulso nervioso a dosis elevadas. A este efecto se le atribuyen las arritmias cardíacas potencialmente fatales, al igual que sus efectos analgésicos en neuropatías periféricas (Stahl, 1998).

2.7.5 Variabilidad interindividual

Hasta finales de los sesenta, y aún hoy en día, especialmente en países no industrializados, la dosis de los medicamentos se ha establecido por la presencia de una respuesta clínica o de los efectos adversos. Si los efectos adversos se presentan, la dosis es reducida y si la eficacia es por debajo de la óptima, en ausencia de efectos adversos, la dosis se aumenta; por lo que esta aproximación llega a ser inapropiada, cuando los efectos adversos del fármaco no se relacionan con las dosis, cuando no existe una relación entre el incremento de la dosis y la respuesta terapéutica o cuando los parámetros de eficacia son ambiguos. El éxito o el fracaso de cualquier tratamiento farmacológico dependerán de un número de factores como un correcto diagnóstico y la selección apropiada del fármaco y su dosificación. Sin embargo, es frecuente apreciar una ausencia de relación entre la dosis y el efecto de un fármaco, lo que obliga a pensar en la variabilidad de los pacientes. El monitoreo de ADTs es útil para prevenir la aparición de toxicidad, para incrementar la eficacia terapéutica y para disminuir costos de hospitalización (Preskorn *et al*, 1991).

Moody en el año de 1967, fue uno de los primeros en descubrir que la variabilidad interindividual en la respuesta antidepresiva estaba en proporción directa a las diferencias encontradas en los niveles plasmáticos de sujetos a los que se les administraba la misma dosis de un antidepresivo tricíclico (ADT). Esta variabilidad puede deberse a diferencias en la tasa metabólica y a los efectos de enfermedades concomitantes, de la raza, la edad o el sexo que alteren la absorción, el aclaramiento y el volumen de distribución de un fármaco. Las interacciones medicamentosas, la falta de cumplimiento (en fármacos de uso crónico principalmente), los factores genéticos y medioambientales también son causa de pérdida de relación entre las dosis y el efecto farmacológico (Preskorn *et al*, 1991).

Los cambios relacionados con la edad suelen ser significativos en el metabolismo y aclaramiento de los ADTs. Los niños metabolizan y eliminan los ADTs más eficazmente que los adultos jóvenes y todavía más eficazmente que los pacientes geriátricos. Adicionalmente, una disminución transitoria en el metabolismo de algunos medicamentos puede presentarse unos meses antes de la pubertad, lo cual puede deberse a la competición entre los fármacos y las hormonas sexuales por las enzimas hepáticas. En ancianos se presenta una disminución del metabolismo hepático que contribuye a incrementar los niveles plasmáticos de ciertos fármacos (Preskorn *et al*, 1991).

Con respecto a la influencia del sexo en la variabilidad, debe tenerse en cuenta que muchos estudios experimentales con fármacos para determinar la dosificación se llevan a cabo con sujetos masculinos, obviando la menor secreción de ácido gástrico en las mujeres que puede aumentar la absorción de bases débiles de ciertos fármacos. La menor proporción de masa corporal versus tejido adiposo de las mujeres aumenta la distribución de sustancias liposolubles como es el caso de los antidepresivos tricíclicos y los cambios en los niveles de hormonas ováricas durante el ciclo pueden llevar a retención de líquidos y a alteraciones en el metabolismo de xenobióticos. En la segunda mitad del embarazo, se presentan cambios fisiológicos que exigen un incremento en las dosis de fármacos, esto se debe a: 1) la disminución de la capacidad de unión proteína-ligando, 2) incremento del metabolismo hepático, 3) disminución en la motilidad gastrointestinal inducida por la progesterona, que reduce la tasa de absorción y 4) aumento del volumen de distribución (Preskorn *et al*, 1991).

La influencia de la raza, el sexo, la edad y los factores genéticos y medioambientales son ilustrados en forma conjunta con un estudio que involucra la acción de la *CYP1A2*, una enzima del sistema de la citocromo P450 que se encarga del metabolismo de la cafeína, el estradiol, algunos ADTs y antipsicóticos y de la clozapina, entre otros. La enzima es además inducida (activada) por el consumo de cigarrillo e inhibida por la fluvoxamina y su actividad es menor en mujeres y en sujetos de raza negra. La determinación de los niveles plasmáticos, no debe sustituir la evaluación clínica en parámetros como la respuesta terapéutica, los efectos adversos o la toxicidad, pero es útil en el diseño de regímenes de dosificación seguros y eficaces, permite evaluar la biodisponibilidad, el cumplimiento y prevenir o controlar interacciones medicamentosas. Sin embargo, la determinación de estos niveles está justificada cuando se busca incrementar la eficacia, reducir el riesgo de toxicidad, disminuir los costos y evitar problemas médico-legales (por el riesgo potencial de toxicidad en metabolizadores lentos) (Preskorn *et al*, 1991).

La pérdida de relación en el efecto terapéutico o toxicológico puede deberse a la interacción fármaco-receptor de carácter irreversible o modificada por factores patológicos, tiempo prolongado para el equilibrio entre diferentes compartimentos corporales, incremento de los niveles de la fracción libre, acción predominante de un metabolito no medido, medición inadecuada del efecto terapéutico, inclusión de pacientes resistentes a tratamientos previos o no homogéneos y la administración de mezclas racémicas (Preskorn *et al*, 1991).

Con respecto al cumplimiento, se sabe que más del 70% de los pacientes suele fallar en el consumo del 25% a 50% de la dosis prescrita cuando esta es fraccionada en varias tomas al día versus un 7% cuando el régimen es de una sola toma al día. En trabajos de investigación de fármacos la detección de niveles plasmáticos, permite detectar problemas de cumplimiento, metabolizadores lentos o rápidos, problemas farmacocinéticos, interacciones medicamentosas y seleccionar una dosis óptima (Preskorn *et al*, 1991).

2.7.6 Reacciones adversas

Los efectos colaterales más frecuentes son las reacciones de tipo atropínico, que incluyen: sequedad de boca, visión borrosa, constipación, retención urinaria y taquicardia. En el 10% de los pacientes se presentan cefaleas, temblores musculares. Los efectos colaterales menos frecuentes son: sudoración, mareos, insomnio, somnolencia, anorexia, pirosis, fatiga, aumento de peso, náuseas, vómitos, aumento de la frecuencia urinaria, temblores (especialmente a altas dosis), hipotensión ortostática, edema angioneurótico, entumecimiento y hormigueo de brazos y piernas, reacciones alérgicas caracterizadas por erupción cutánea, inflamación de cara y lengua, prurito, púrpura y discrasias sanguíneas, ictericia obstructiva alérgica, excitación maniaca en ciertos pacientes, alucinaciones y delirios. Las dosis altas aumentan la frecuencia de las crisis en los epilépticos y pueden causar ataques epileptiformes en sujetos normales. Se ha presentado infarto al miocardio y arritmias cardíacas (Sharpley *et al*, 1995).

2.7.6.1 Sistema Nervioso Central

La administración de dosis terapéuticas de antidepresivos tricíclicos a individuos normales produce somnolencia, vértigos, una caída leve de la presión arterial y ciertos efectos anticolinérgicos como sequedad bucal, visión borrosa. La marcha puede tornarse inestable; los sujetos se sienten cansados y torpes y tienen dificultad para concentrarse (Sharpley *et al*, 1995).

2.7.6.2 Sistema Nervioso Autónomo

Los efectos principales de los antidepresivos tricíclicos sobre la función del SNA son el resultado de la inhibición del transporte de noradrenalina hasta las terminaciones de los nervios adrenérgicos y del antagonismo de las respuestas muscarínicas colinérgicas y α_1 -adrenérgicas hasta los neurotransmisores autónomos (Sharpley *et al*, 1995).

2.7.6.3 Sistema Cardiovascular

En dosis terapéuticas, los antidepresivos tricíclicos tienen efectos significativos sobre el sistema cardiovascular, entre los que se manifiesta con más frecuencia en el hombre es la hipotensión ortostática, que en parte proviene del bloqueo α -adrenérgico periférico. También se observa con frecuencia taquicardia sinusal leve, probablemente como consecuencia de una inhibición en la captación de noradrenalina y un bloqueo de los receptores muscarínicos. Además, los antidepresivos tricíclicos potencian los efectos de otros fármacos cardiodepresores. La sobredosis con ADTs puede producir síntomas de toxicidad anticolinérgica y cardíaca (Sharpley *et al*, 1995).

Los pacientes deben ser hospitalizados para un monitoreo cardíaco. Los síntomas aparecen entre 1 y 4 horas después de la ingestión masiva: depresión respiratoria, choque, arritmias auriculares y ventriculares, hipertermia, agitación, ataxia, delirium y coma. También se aprecia midriasis, nistagmus, hiperreflexia tendinosa, temblor, mioclonus, movimientos coreoatetósicos, parálisis vesical y convulsiones (Preskorn *et al*, 1991; Sharpley *et al*, 1995).

2.7.6.4 Efectos anticolinérgicos

El bloqueo de los receptores muscarínicos se presenta con casi todos los ADTs. Este bloqueo explica la frecuente aparición de síntomas como sequedad de boca, ganancia de peso, sudoración, visión borrosa, estreñimiento, retención urinaria, precipitación de una crisis glaucomatosa, cefalea, irritabilidad, disfunción sexual y alteraciones cardiovasculares. Adicionalmente, los efectos anticolinérgicos crónicos de los ADTs pueden llevar al paciente a suspender el tratamiento (Preskorn *et al*, 1991).

2.7.6.5 Disfunción sexual

Se caracteriza por disminución de la libido y disfunción eréctil debido a la acción anticolinérgica. También se ha descrito el compromiso de la eyaculación tanto por su efecto anticolinérgico como por su efecto bloqueador de receptores α_1 (con clomipramina principalmente). La imipramina, clomipramina y nortriptilina han sido implicadas en la aparición de orgasmo femenino inhibido (Sharpley *et al*, 1995).

2.7.6.6 Efectos neurológicos

Se caracteriza por temblor, parestesias, neuropatía periférica, extrapiramidalismo, mioclonías, trastornos de memoria y alucinaciones visuales y auditivas. La acatisia ha sido observada con la administración de imipramina, desipramina, clomipramina, amitriptilina y amoxapina y se ha manejado adecuadamente con propranolol o suspensión del antidepresivo. Las distonías y las discinesias tardías irreversibles han sido observadas con amitriptilina, imipramina y clomipramina y el parkinsonismo con la administración de imipramina (Preskorn *et al*, 1991).

2.7.6.7 Delirium por antidepresivos tricíclicos

Caracterizado por inquietud y trastornos del sueño que progresa a trastornos de memoria, agitación, desorientación, insomnio marcado, mioclonías, convulsiones, acidosis metabólica, hiperpirexia, depresión respiratoria y en última instancia a estados delirantes (Preskorn *et al*, 1991).

2.7.6.8 Síntomas de abstinencia

Se ha descrito un rebote colinérgico por remoción del bloqueo muscarínico al cabo de 12 horas de suspensión del medicamento, que puede incluir malestar gastrointestinal, trastornos del sueño, acatisia o parkinsonismo, arritmias cardíacas e incluso manía o hipomanía (activación paradójica), que ceden con la reinstauración del ADT (Preskorn *et al*, 1991).

2.7.7 Interacciones medicamentosas

Los ADTs utilizan varias vías del sistema de la citocromo P450 destinadas al metabolismo de xenobióticos (2D6, 3A4, 1A2, 2C19) y cualquier administración concomitante con otros medicamentos o sustancias que utilicen estos sistemas enzimáticos o los inhiban pueden conducir a diferentes grados de interacción medicamentosa y a la aparición o incremento de efectos adversos indeseables. Otro tipo de interacciones se presentan por la acción bloqueadora de los ADTs sobre diferentes receptores que pueden potenciar o inhibir, el efecto de medicamentos con mecanismos de acción similar o diferente, respectivamente. Por esta razón, no se recomienda el uso concomitante de los ADTs con antihipertensivos de

acción central (disminución del efecto antihipertensivo), simpaticomiméticos y antiarrítmicos, anticolinérgicos, antihistamínicos, antipsicóticos (el haloperidol y las fenotiazinas pueden bloquear el metabolismo de los ADT y elevar sus niveles plasmáticos y viceversa), IMAO's (riesgo de presentación de un síndrome serotoninérgico y en casos severos aparición de hiperpirexia y convulsiones), cimetidina (puede bloquear el metabolismo de los ADTs y elevar sus niveles plasmáticos hasta en un 80%), metilfenidato (bloquea el metabolismo de los ADTs), metadona (dobla los niveles plasmáticos de desipramina), warfarina (puede incrementarse la actividad anticoagulante) y agentes vasoconstrictores (por potenciación de su efecto). Los ADTs potencian los efectos depresores sobre el SNC del alcohol y las BZDs, debido a sus efectos antihistamínicos (particularmente con aminas terciarias). La fluoxetina y la paroxetina aumentan los niveles plasmáticos de otros ADTs en 2 o 4 veces por disminución de su depuración. La carbamazepina, los barbitúricos y el cigarrillo disminuyen los niveles plasmáticos de los ADTs por inducción enzimática. En el Cuadro No. 3, se presentan algunas interacciones medicamentosas que sufren los ADTs en combinación de otros medicamentos (Shoaf, 1991).

Cuadro No. 3, Interacciones medicamentosas entre antidepresivos tricíclicos y otros medicamentos.

Efecto	Fármacos que interaccionan	Mecanismo	Inicio
Incremento de las concentraciones plasmáticas de antidepresivos	cimetidina	Inhibición enzimática	Rápido
	Fármacos antipsicóticos	Inhibición enzimática	Lento
	Anticonceptivos orales	Efecto de primer paso ↓	Rápido
	fenilbutazona	Desplazamiento proteínas	Rápido
Disminución de las conc. plasm. de antidepresivos	Barbituratos Hidrato de cloral Fumar	Inducción enzimática	Lento
Incremento de efectos adversos anticolinérgicos	Antihistamínicos Antiparkinsonianos Antipsicóticos	Efectos aditivos	Rápido
Sedación	Narcóticos Hipnóticos sedantes Antipsicóticos Alcohol	Efectos aditivos	Rápido
Estimulación simpática	norepinefrina epinefrina fenilefrina	Efectos aditivos	Rápido
Cardiotoxicidad	quinidina procainamida diisopiramida	Efectos sobre conducción cardíaca aditivos	Rápido
Incremento del efecto terapéutico o tóxico de los antidepresivos	Inhibidores de la MAO Hormona tiroidea metilfenidato	Efectos aditivos a nivel del receptor	Rápido Lento Lento
Efecto de los antidepresivos sobre otros fármacos	clonidina	↓ efecto antihipertensivo	Rápido
	guanetidina		Rápido
	metildopa		Lento
	warfarina	↑ efecto anticoagulante	Lento

(Fuente: <http://psicofarmacologia.bizland.com>, Shoaf, 1991)

2.7.8 Farmacología de los antidepresivos tricíclicos

2.7.8.1 Imipramina: La imipramina tiene una absorción rápida por vía oral; metabolito activo: nortriptilina; la 10-hidroxilación es llevada a cabo por la *CYP2D6*, mientras la N-desmetilación (que da origen a la nortriptilina) se realiza por intermedio de la *CYP1A2* principalmente, y la *CYP3A3/4* y la *CYP2C19* en menor medida. Aumenta la serotonina y la noradrenalina en el espacio sináptico por bloqueo de su transportador y bloquea, en orden de mayor a menor magnitud, receptores H_1 y H_2 > muscarínicos > α_1 > 5-HT₂ (Preskorn *et al*, 1991).

Iniciar con 50-75 mg y realizar incrementos de 25-50 mg cada 2-3 días hasta alcanzar una dosis de 100-150 mg/día; si a las 2 a 3 semanas no hay respuesta continuar el aumento hasta alcanzar las dosis máximas permitidas de 300-350 mg de imipramina o su equivalente (3.5 mg/kg). El riesgo de toxicidad se alcanza con dosis 2 a 6 veces mayores a las terapéuticas. Se deben administrar inicialmente 2 a 3 veces al día. Debe de tenerse en cuenta la posibilidad de disfunción eyaculatoria por acción (afinidad) sobre receptores 5-HT₂ y disminución de la erección peneana nocturna por acción antiadrenérgica. La amitriptilina causa un empeoramiento de las medidas de actividad del SNC, una marcada sedación (comparada con otros ADTs) y una disminución en el rendimiento (Preskorn *et al*, 1991).

2.7.8.2 Clomipramina: Tiene rápida absorción después de su administración oral, su metabolito activo: desmetilclomipramina, el cual es un inhibidor de la recaptación de noradrenalina a diferencia del compuesto original y tiene una vida media superior a 3 semanas. La 8-hidroxilación de la clomipramina se lleva a cabo por la *CYP2D6*. Los niveles plasmáticos del metabolito son más elevados que el compuesto original (40 a 85%) en el estado de equilibrio a dosis de 75 mg/día. Incrementa la serotonina por inhibición de la recaptación y bloquea, en orden de mayor a menor magnitud, receptores 5-HT₂ > H_1 > muscarínicos y α_1 (Richelson, 2001).

La clomipramina ha demostrado ser eficaz en el manejo de la depresión mayor y depresión atípica, es un medicamento realmente eficaz en pacientes con trastorno obsesivo-compulsivo con tasas de respuesta cercanas al 70%. El efecto terapéutico se presenta a los 20-40 días. Es uno de los antidepresivos tricíclicos más arritmogénicos; puede llevar a convulsiones en un 0.48% a 2.1% con dosis mayores de 200 mg a 300 mg respectivamente. Otros efectos adversos comunes son anorgasmia pasajera, boca seca, temblor, mareo, somnolencia, constipación, náuseas, cefalea, sudoración, trastorno en eyaculación, insomnio, dispepsia, midriasis, nerviosismo, retención urinaria, hipotensión ortostática y palpitaciones. La administración concomitante con IMAOs puede llevar a crisis hipertensiva. La administración concomitante con moclobemida, fluoxetina y fluvoxamina puede llevar a un síndrome serotoninérgico. La biodisponibilidad y grado de analgesia de la morfina es incrementado por la clomipramina. Las BZDs, cimetidina, ISRS o haloperidol pueden incrementar sus niveles plasmáticos, y el cigarrillo y los barbitúricos, disminuirlos (Richelson, 2001).

2.7.8.3 Amoxapina: Compuesto tricíclico dibenzoxacepínico. Tiene rápida y completa absorción por vía oral. Sus metabolitos activos: 8-hidroxiamoxapina (vida media = 30 horas) y 7-hidroxiamoxapina (vida media = 4 horas). Incrementa la noradrenalina a nivel central por inhibición de su recaptación y tiene una débil acción bloqueadora de la recaptación de serotonina. Bloquea, en orden de mayor a menor magnitud, receptores $5\text{-HT}_2 > \text{H}_1 > \alpha_1 > \text{D}_2$ (Richelson, 2001).

El metabolito N-desmetilado de la loxapina es un potente antipsicótico, tanto que 100 mg equivalen a 0.5-1 mg de haloperidol y por ello es útil en depresión postpsicótica, o depresión mayor con síntomas psicóticos. Levemente sedante, arritmogénico (flutter auricular; bloqueo cardíaco), puede llevar a convulsiones intratables en caso de sobredosis. Puede producir acatisia, distonías agudas y discinesia tardía por la acción anti- D_2 . También se han reportado síntomas anticolinérgicos e hipotensión ortostática y galactorrea, amenorrea y disfunción eyaculatoria. Los pacientes geriátricos son más susceptibles a desarrollar discinesia tardía y síntomas extrapiramidales; en ellos debe iniciarse con 25 mg/día (Richelson, 2001).

2.7.8.4 Maprotilina: Antidepresivo tetracíclico con absorción lenta pero completa por vía oral. El metabolito activo: desmetilmaprotilina. Es selectivo (más no potente) inhibidor de la recaptación de noradrenalina, lo que lleva al incremento de la misma. Bloquea, en orden de mayor a menor magnitud, receptores H_1 y α_1 . Tiene moderados efectos anticolinérgicos y cardiotóxicos, pero la incidencia de convulsiones es una de las más altas en comparación con los demás antidepresivos (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

En general, la maprotilina es un eficaz antidepresivo para cualquier grado de severidad de depresión mayor. Se han reportado acné severo, sedación marcada y ganancia de peso. Junto con otros ADTs de perfil noradrenérgico, la maprotilina se ubica entre los antidepresivos con mayor letalidad cuando se ingiere con fines suicidas. En estos casos de depresiones resistentes a otros antidepresivos, la combinación de los IMAOs con ADTs parece sugerir una más rápida y pronunciada eficacia que la monoterapia (Richelson, 2001).

2.7.9 Farmacología de los Inhibidores Selectivos en la Recaptura de Serotonina

2.7.9.1 Citalopram: Absorción completa por vía oral no alterada por alimentos. El citalopram es administrado como una mezcla racémica, en la que los S-enantiómeros son más potentes inhibidores del transportador de serotonina y constituyen sólo el 35% de los niveles plasmáticos totales del citalopram. Su vía metabólica primaria es la desmetilación a desmetilcitalopram (vida media = 49 horas), dependiente de la actividad de la *CYP2C19*, mientras el metabolismo del desmetilcitalopram a didesmetilcitalopram (vida media = 102 horas) se lleva a cabo a través de la *CYP2D6*. Los metabolitos son prácticamente inactivos. citalopram es 300 veces más selectivo para inhibir la recaptación de serotonina que la clomipramina, ya que tiene muy poco efecto en la recaptación de noradrenalina (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

Entre los principales efectos adversos se encuentran: insomnio, cefalea, somnolencia, astenia, sudoración, alteraciones visuales, náuseas, boca seca, constipación, palpitaciones, mareos, temblor. También se ha reportado disminución del deseo sexual y disfunción orgásmica, al igual que un síndrome serotoninérgico severo al combinar citalopram con moclobemida (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

2.7.9.2 Venlafaxina: Absorción del 92%, con un metabolito activo por acción del citocromo *CYP2D6*: O-desmetilvenlafaxina (vida media = 9 a 11 horas). La N-desmetilación a través de la *CYP3A3/4* es una vía menor que da origen a la N-desmetilvenlafaxina. Inhibidor no selectivo de la recaptación de serotonina, noradrenalina y en menor medida de dopamina (al igual que su metabolito), sin efectos muscarínicos, α -adrenérgicos o antihistamínicos. A dosis bajas el medicamento se comporta como un ISRS, pero a dosis media la acción dual se hace evidente. A dosis muy elevadas, la inhibición de la recaptación de dopamina suele ocurrir (Richelson, 2001).

Los principales efectos adversos son: náuseas, somnolencia, insomnio, mareos, sudoración, cefalea, inquietud motora y alteraciones en la eyaculación. Las náuseas suelen resolverse en las primeras 1 a 3 semanas de terapia. También pueden presentarse constipación, sudoración, nerviosismo y trastornos en la eyaculación. Un pequeño número de pacientes experimentan incrementos en la presión sanguínea. Las interacciones de venlafaxina con fármacos metabolizados a través de la *CYP2D6* son modestas en metabolizadores rápidos debido a la baja potencia inhibitoria sobre esta enzima (Richelson, 2001).

2.7.9.3 Mianserina: Los metabolizadores pobres de debrisoquina exhiben altas concentraciones plasmáticas de mianserina y su metabolito, desmetilmianserina, lo que sugiere un metabolismo dependiente de *CYP2D6* para ambos. Más aún, el metabolismo por *CYP2D6* parece exhibir un grado importante de estereoselectividad, con una mayor eliminación del enantiómero S(+) en metabolizadores rápidos de debrisoquina. La mianserina es un antidepresivo tetracíclico del grupo de los α_2 antagonistas o noradrenérgico. Es un antagonista de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT₂, H₁, α_1 y α_2 . Útil en trastorno obseso-compulsivo y en depresión recurrente, con una dosis de 20-60 mg/día (50-150) (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

La mianserina es un inductor de hipertensión arterial y sedación. Puede llevar a anemia aplásica y agranulocitosis. Deprime significativamente las erecciones penianas nocturnas. La mianserina causa un empeoramiento de las medidas de actividad del SNC, una marcada sedación (comparada con otros ADTs) y una disminución en el rendimiento. Por ello se considera un medicamento con alto nivel de toxicidad conductual (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

2.7.9.4 Reboxetina: La reboxetina es una mezcla racémica de dos enantiómeros, siendo el S-enantiómero el de mayor actividad inhibitoria. Tiene una farmacocinética lineal con una absorción oral rápida y completa (que puede incrementarse con los alimentos), un tiempo máximo de 2 horas, un volumen de distribución amplio, una biodisponibilidad superior al 60% y una vida media de eliminación de 12.5 horas. Es ampliamente metabolizada por las monoxigenasas hepáticas (principalmente por la *CYP3A4*), pero carece de efectos inhibitorios en las enzimas de la citocromo P450 (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

Los siguientes efectos adversos han sido observados en pacientes en tratamiento con reboxetina: vértigo, taquicardia, impotencia, retención urinaria, insomnio, sudoración, constipación y boca seca. En un estudio comparativo con fluoxetina, la reboxetina condujo a un mayor número de abandonos por intolerancia a efectos adversos (12% vs 7%), encontrándose adicionalmente síntomas como enrojecimiento facial, parestesias, hipotensión, retención urinaria, constipación y boca seca. Los efectos adversos más frecuentes con fluoxetina fueron: somnolencia, diarrea y náuseas. En estudios a largo plazo se han observado además: rash, hipertensión arterial, retención urinaria y constipación. En forma significativa se han detectado alteraciones en el ritmo cardíaco, especialmente taquicardia. También se ha observado una reducción de las concentraciones de potasio en plasma en ancianos tras administración (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

2.7.9.5 Fluoxetina: Se administra en forma de compuesto racémico en el que ambos enantiómeros (S y R) son potentes inhibidores de la recaptación de serotonina, pero el S-enantiómero es el más potente en la inhibición de la *CYP2D6*. Tiene una biodisponibilidad oral del 72%, cruza rápidamente la barrera hematoencefálica y se distribuye en la leche materna, aunque en concentraciones menores al 1% de las encontradas en el plasma materno. Su metabolismo (por acción de la *CYP2D6* principalmente) da como resultado un metabolito activo, la desmetilfluoxetina o norfluoxetina. La fluoxetina y su metabolito se conjugan con ácido glucurónico y se eliminan por riñón en un 60% (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

La fluoxetina es eficaz en el manejo de la depresión mayor leve a moderada y la profilaxis de la misma, a dosis de 20-40 mg/día. Dosis menores pueden utilizarse ante la presencia de efectos adversos por la hiperestimulación serotoninérgica con respuestas igualmente satisfactorias, especialmente en pacientes deprimidos con trastorno de pánico concurrente. Deben esperarse 2 a 4 semanas (6 a 8 en pacientes resistentes) para el inicio de la acción terapéutica. Sin embargo, Preskorn y col. han postulado que al combinarse con desipramina se presenta una más rápida regulación de los receptores β_1 . A pesar de esto, la combinación de fluoxetina con otros antidepresivos tricíclicos, puede incrementar el riesgo de alcanzar niveles plasmáticos de los ADTs cercanos a la toxicidad (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

Los principales efectos adversos en orden de frecuencia son: náuseas (por estimulación de receptores 5-HT₃), nerviosismo que cede al alprazolam por un corto período de administración, pérdida del apetito y peso durante las primeras 6 semanas, insomnio, polaquiuria, somnolencia, fatiga, temblor, diarrea, cefalea, sudoración excesiva, boca seca, rash, dispepsia, disminución de la libido, constipación, disturbios visuales, manía-hipomanía y escasos efectos extrapiramidales como acatisia (posiblemente por la activación de receptores 5-HT₂ y la reducción de la actividad dopaminérgica), distonía y discinesias, principalmente en pacientes ancianos, en pacientes tratados con antipsicóticos y eventualmente en pacientes con enfermedad de Parkinson (por activación de receptores 5-HT_{1B} en las terminales dopaminérgicas de ganglios basales, cerebelo y sustancia nigra). Además pueden presentarse fiebre, rinitis, tartamudeo, tics oculares, pérdida del cabello, dolor musculoesquelético, trastornos respiratorios, hiponatremia (en ancianos o deshidratados), síndrome de la enfermedad del suero (rash cutáneo acompañado de sensación urente en dedos, manos o brazos, proteinuria, leucocitosis, aumento de transaminasas, fiebre y dolor articular), dolor precordial, excitación sexual, incremento de la prolactina y hasta delirios (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

En pacientes con trastornos cardiovasculares puede haber la aparición de bradicardia, síncope, fibrilación auricular, taquicardia supraventricular e hipotensión. La fluoxetina puede incrementar los tiempos de sangrado por inhibir la agregación plaquetaria (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

La fluoxetina tiene la capacidad de inhibir fuertemente la *CYP2D6* y en forma moderada la *CYP3A3/4* y la *CYP2C19*. Después del uso prolongado, la fluoxetina mantiene su inhibición sobre la *CYP2D6* por espacio de 4 a 6 semanas después de ser suspendida, y cualquier fármaco que sea desmetilado, hidroxilado, desalquilado o sulfoxidado puede incrementar sus niveles plasmáticos. En el caso de otros antidepresivos tricíclicos, la inhibición de la *CYP2D6* compromete el proceso de hidroxilación, mientras la desmetilación puede verse afectada en menor medida por la inhibición de la *CYP3A4* y *CYP2C* (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

2.7.9.6 Sertralina: Absorción gradual y completa por vía oral. La biodisponibilidad de las presentaciones en cápsulas puede verse modestamente reducida en un 28% por lo que se ha recomendado su administración con alimentos. Tiene metabolismo hepático a través de la *CYP2D6* y *CYP3A3/4* con formación de un metabolito activo, N-desmetilsertralina, 8 veces menos potente que la molécula madre, el cual tiene una vida media de 62-104 horas y metabolizado por los mismos sistemas enzimáticos. Aunque presenta una inducción enzimática en un 5%, la sertralina exhibe concentraciones plasmáticas estables al cabo de una semana, proporcionales a las dosis administradas (farmacocinética lineal). Es 4 veces más potente que la fluoxetina y 3 más que la fluvoxamina en la capacidad de inhibir el transportador de serotonina (Preskorn *et al*, 1991).

La depresión geriátrica ha sido motivo especial de estudio con sertralina por su perfil de seguridad (menor compromiso del funcionamiento cognitivo), el escaso número de interacciones medicamentosas y por ser de similar eficacia a la amitriptilina, nortriptilina y fluoxetina; en la depresión ansiosa ha demostrado igualmente ser eficaz. En depresión crónica exhibió una tasa de respuesta similar a la de la imipramina (Preskorn *et al*, 1991).

Estudios con sertralina muestran que 50 mg/día producen concentraciones plasmáticas que llevan una inhibición cercana al 80% de la recaptación de serotonina plaquetaria; una inhibición mayor se traduce sólo en un incremento de los efectos adversos. La combinación de antidepresivos con acción serotoninérgica (ISRS, clomipramina, IMAOs, nefazodona, venlafaxina) o su asociación a L-triptófano puede llevar a la presentación de un síndrome serotoninérgico, el cual se desarrolla en un período de minutos o semanas después de la adición del segundo fármaco serotoninérgico, al parecer por el bloqueo del receptor 5-HT_{1A}. Consiste en inquietud motora, confusión, mioclonías, hipomanía, y en menor medida: irritabilidad, hostilidad, diaforesis, dolor abdominal, diarrea, rigidez, hipertermia, hiperreflexia, taquicardia, hiper o hipotensión, temblor y delirium (Preskorn *et al*, 1991).

Los efectos adversos más comunes son: náuseas, eyaculación retardada, diarrea, temblor, insomnio, somnolencia, boca seca, sudoración, mareo, nerviosismo, trastornos gastrointestinales (dispepsia), fatiga, constipación, disturbios visuales, palpitaciones, cefalea,

disminución del apetito, disminución de peso, manía-hipomanía, disminución del ácido úrico en sangre (acción uricosúrica). No altera la capacidad psicomotriz, ni la vigilia, ni lleva a hipotensión o arritmias (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

2.7.9.7 Fluvoxamina: Absorción oral completa no afectada por los alimentos. Posee 11 metabolitos inactivos fruto de la acción enzimática de la *CYP1A2* en mayor medida y de la *CYP2C19* y *CYP3A4* en menor medida. Exhibe un patrón de cinética lineal. En el trastorno de pánico con agorafobia la dosis de 200 mg/día es muy eficaz, así como en pacientes con trastorno de pánico acompañado por depresión moderada a severa. Los principales efectos adversos son: náuseas, cefalea, somnolencia, mareo, boca seca, insomnio, astenia, diarrea, dispepsia, temblor, eyaculación retardada, palpitaciones, disminución del apetito (Richelson, 2001).

2.7.9.8 Paroxetina: Su absorción es lenta pero completa sin alteración por alimentos. Tiene una importante extracción de primer paso, saturable, a través del citocromo *CYP2D6*. Se metaboliza extensamente por oxidación dando formación a un metabolito catecol (M_2) el cual sufre luego procesos de metilación y glucoronidación; posee una cinética no lineal; su vida media se incrementa de 10 horas con la primera administración hasta 20 horas en estado de equilibrio. No tiene metabolitos activos, pero el M_2 es un potente inhibidor de la *CYP2D6* (Preskorn *et al*, 1991).

Los efectos adversos más comunes son: náuseas, somnolencia, eyaculación retardada, mareos, fatiga, anorgasmia, disfunción eréctil e impotencia, sudoración, insomnio, temblor, boca seca, constipación, nerviosismo, disminución del apetito, diarrea, disminución de la libido, cefalea. Se han reportado efectos adversos diversos como pérdida de peso, escalofríos, hipertensión arterial, síncope, edema, amnesia, trastorno de concentración, labilidad emocional, vértigo, tos, rinitis y prurito (Preskorn *et al*, 1991; Richelson, 2001).

La paroxetina, y en menor medida la fluoxetina, poseen farmacocinética no lineal debido a la capacidad de inhibir su propio metabolismo (*CYP2D6*), por lo que su vida media inicial puede incrementarse (Preskorn *et al*, 1991).

2.8 TÉCNICAS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

Hasta principios de los años setenta, el ADN era la molécula de la célula que planteaba más dificultades para su análisis bioquímico. La secuencia de nucleótidos del ADN tan sólo podía ser estudiada a través de caminos indirectos. Actualmente la situación ha cambiado por completo. Hoy en día es posible separar regiones determinadas del ADN, obtenerlas en cantidades prácticamente ilimitadas y determinar su secuencia de nucleótidos a una velocidad de varios cientos de nucleótidos al día. Estos adelantos técnicos han tenido un impacto espectacular en la biología molecular, permitiendo el estudio de las células y sus macromoléculas mediante sistemas que antes eran inimaginables (Bruce *et al*, 1994).

2.8.1 Purificación de ácidos nucleicos

En la actualidad existen diversos métodos para aislar ácidos nucleicos, por ejemplo: métodos orgánicos, salinos, alcalinos, por enzimas proteolíticas, etc. Todos ellos involucran tres pasos básicos: 1) Lisis de leucocitos, células que contienen el material genético, mediante la utilización de amortiguadores de lisis; 2) Eliminación de componentes celulares no deseados; 3) Obtención de ADN mediante la precipitación alcohólica. La purificación de ácidos nucleicos es una técnica muy importante en genética y biología molecular, que en conjunto con otras, ha permitido el conocimiento de la estructura, función y regulación de los genes (Sambrook *et al*, 1989).

2.8.2 Cuantificación de ácidos nucleicos

Existen dos métodos muy usados para medir la cantidad de ácidos nucleicos en una muestra de ADN. Si la muestra es pura (es decir que no tiene cantidades significativas de impurezas como: proteínas, fenol u otros ácidos nucleicos), la cuantificación se realiza por espectrofotometría. Si la muestra es muy pequeña o contiene cantidades significativas de impurezas, la cuantificación puede ser estimada mediante una electroforesis con bromuro de etidio (Lehninger *et al*, 2001).

Cuantificación por Espectrofotometría: las purinas y pirimidinas libres son compuestos débilmente básicos y por ello se denominan bases. Poseen una serie de propiedades químicas que afectan a la estructura y, en último término, la función de los ácidos nucleicos. Las purinas y pirimidinas presentes en el ADN son moléculas altamente conjugadas. Estas propiedades tienen efectos importantes sobre la estructura, la distribución electrónica y la capacidad de absorción de la luz UV de los ácidos nucleicos. Las pirimidinas son moléculas planas; las purinas son casi planas, con una ligera torsión. Además como un resultado de la resonancia, todas las bases absorben luz UV, y los ácidos nucleicos se caracterizan por tener absorción a una longitud de onda de 260 nm (Lehninger *et al*, 2001).

Para cuantificar ADN se debe de leer a una longitud de onda de 260 nm y 280 nm. La lectura a 260 nm permite calcular la concentración de ácidos nucleicos en una muestra; y la lectura a 280 nm indica si existen proteínas en la muestra. Una DO (densidad óptica) corresponde aproximadamente a 50µg/ml de ADN de doble cadena. La razón entre las lecturas de DO_{260}/DO_{280} proporciona una estimación de la pureza de los ácidos nucleicos. Las preparaciones puras de ADN tienen valores entre 1.8–2.0. Si el ADN está contaminado con proteínas o fenol, el valor de la razón DO_{260}/DO_{280} es significativamente bajo o por encima del valor normal, por lo cual no se puede calcular la concentración de ADN con exactitud. Cuantificación por emisión de fluorescencia con bromuro de etidio: un método rápido para tener una perspectiva de ADN en una muestra es realizar una electroforesis con bromuro de etidio. El bromuro de etidio se intercala en las bases del ADN, emitiendo fluorescencia por inducción con luz UV, esta emisión de luz se compara contra la emisión de un marcador de peso molecular que posee un patrón de bandas con pesos específicos (Sambrook *et al*, 1989).

2.8.3 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

En el año de 1983 Kary Mullis, da a conocer la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En 1989, esta técnica se seleccionó como el principal desarrollo científico, y la *Taq* ADN polimerasa como la molécula del año (Mullis *et al*, 1990).

La metodología *in vitro* permite la amplificación de una región en particular de ADN, en la reacción intervienen tres segmentos de ADN: el segmento de doble cadena que queremos amplificar, y dos pequeños fragmentos de cadena sencilla, los oligonucleótidos, que son secuencias complementarias a los extremos que flanquean el ADN molde de interés. Además, participan en la reacción la enzima *Taq* ADN polimerasa, desoxinucleótidos-trifosfatos (dNTPs), y un amortiguador adicionado con cloruro de Magnesio ($MgCl_2$). La secuencia de interés es delimitada en ambos extremos por un par de oligonucleótidos sintéticos complementarios que actúan como iniciadores para la síntesis del ADN mediante la ADN polimerasa, quedando los oligonucleótidos con sus extremos 3' enfrentados debido a que la síntesis del ADN se lleva a cabo del extremo 5' a 3'. Esta técnica se realiza mediante ciclos consecutivos que comprenden tres pasos: 1) el ADN de doble cadena es desnaturizado a cadena sencilla mediante calentamiento a 94°C; 2) la temperatura se reduce a 52°C para permitir el alineamiento de los oligonucleótidos con sus secuencias complementarias y 3) se lleva a cabo la extensión de las cadenas por acción de la ADN polimerasa a una temperatura de 72°C, como se muestra en la Figura No. 11. Cabe mencionar que al final de cada ciclo, el ADN de interés aumenta en forma exponencial y sólo es necesario repetir estos ciclos de 20 a 30 veces para obtener una amplificación de 10^6 a 10^7 veces el fragmento de interés (Bruce *et al*, 1994; Lehninger *et al*, 2001).

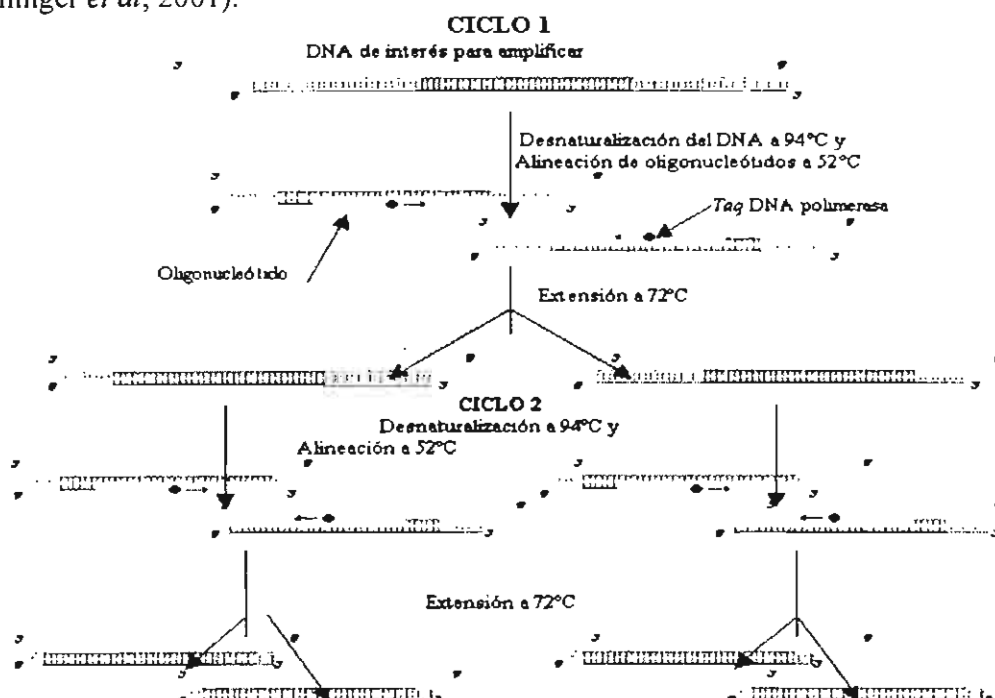


Figura No. 11, Reacción en cadena de la polimerasa.

(Tomada de: <http://webcd.usal.es/web/transgen00/Unidades/Documen00/klein15/klein/TEMA15.htm>)

2.8.4 Enzimas de restricción

Durante la década de los setenta se descubrieron las enzimas de restricción que son verdaderas tijeras moleculares. Estas enzimas reconocen secuencias palindrómicas que pueden ser de 4 a 8 pares de bases, donde se llevan a cabo la restricción. Existen varios tipos de enzimas de restricción, dentro de las cuales están las de tipo I, II, III y otras. Pero solo las enzimas de tipo II son utilizadas para la identificación de polimorfismos genéticos, para construcción de mapas genómicos, debido a que reconocen secuencias palindrómicas ricas en C y G o bien A y T. Los otros tipos de enzimas sirven como defensa para las bacterias, contra la agresión de ADN foráneo proveniente de virus u otras bacterias. Hind II reconoce la secuencia de seis bases 5' GTYTAC 3' en donde Y puede ser C o T. El corte se produce justo en medio de la secuencia. En la actualidad se han aislado cientos de enzimas que generan distinto tipo de corte. El corte romo o recto en que ambas hebras de ADN se cortan a la misma altura y el corte cohesivo o pegajoso, en el que el corte no ocurre a la misma altura en las hebras, lo que deja generalmente cuatro bases sobresalientes en cada hebra (Bruce *et al*, 1994; Lenhinger *et al*, 2001; <http://www.biopuc.cl/cursos/bio288/clase2.htm>).

2.8.5 Electroforesis

La electroforesis es un método para separar, identificar y purificar fragmentos de ADN. Se puede realizar en geles de agarosa o de poliacrilamida. En la electroforesis, se colocan partículas cargadas en un campo eléctrico y se les permite que migren hacia los polos positivo o negativo. Las moléculas se separan porque se mueven a diferentes velocidades en función de su carga, peso y tamaño. Las concentraciones de los geles de agarosa y de poliacrilamida varían en función a los tamaños de los fragmentos de ADN a separar. Habitualmente se utilizan geles de agarosa del 0.3 al 2.0% (Tabla 2) o geles de poliacrilamida del 3 al 20% (Tabla 3). Cuando se genera un campo eléctrico en el gel, los fragmentos se desplazan a través de los poros del gel hacia un electrodo. La velocidad de migración de cada fragmento es inversamente proporcional al logaritmo de su peso molecular y los fragmentos se separan en clase de tamaños (Bruce *et al*, 1994; Lenhinger *et al*, 2001; Sambrook *et al*, 1989; <http://www.biopuc.cl/cursos/bio288/clase2.htm>).

Tabla No. 2, Rangos de separación de ADN, en geles de agarosa a diferentes concentraciones.

Concentración de agarosa (% W/V)	Rangos eficientes de separación ADN lineal (Kb)
0.3	5 – 60
0.6	1 – 20
0.7	0.8 – 10
0.9	0.5 – 7
1.2	0.4 – 6
1.5	0.2 – 3
2.0	0.1 – 2

(Obtenida de Sambrook *et al*, 1989)

Tabla No. 3, Rangos de separación de ADN, en geles de poliacrilamida a diferentes concentraciones.

Concentración de poliacrilamida (% W/V)	Rangos eficientes de separación ADN lineal (pb)
3.5	1000 – 2000
5.0	80 – 500
8.0	60 – 400
12.0	40 – 200
15.0	25 – 150
20.0	6 – 100

(Obtenida de Sambrook *et al*, 1989)

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia del polimorfismo de *CYP2D6* en pacientes con depresión.

3.2 OBJETIVO PARTICULAR

Analizar si existe alguna relación entre los datos genotípicos con la respuesta individual al agente antidepresivo prescrito.

IV. JUSTIFICACIÓN

En México no se ha realizado ningún estudio acerca de los polimorfismos del gen *CYP2D6*, por lo que la identificación de los alelos mutantes en pacientes con depresión permitirá desarrollar pruebas rutinarias para genotipificar a estos individuos y lograr una estimación precisa de su capacidad metabolizadora; además evitará reacciones adversas, lo cual se traducirá en una mayor eficacia terapéutica, además de que ofrecerá un ahorro considerable en tiempo y costo del tratamiento. Así mismo este estudio pretende contribuir a una terapia individualizada de los pacientes con depresión, mediante el análisis genotípico de la enzima *CYP2D6*, la cual es responsable de metabolizar varios medicamentos utilizados en la terapia de estos pacientes.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El protocolo se ajustó a los lineamientos de la Declaración de Helsinki. Los pacientes que participaron en esta investigación fueron voluntarios y se incluyeron en la muestra después de aceptar y firmar una carta de consentimiento informado (Vease Anexo No. 1).

5.1.1 Criterios de inclusión

- i. Pacientes que estuvieran bajo tratamiento con uno o más fármacos antidepresivos metabolizados por la *CYP2D6*.
- ii. Que fueran mexicanos, al menos dos generaciones (tanto padres como abuelos que fueran mexicanos o un abuelo español).
- iii. Como el objetivo fue determinar la frecuencia del polimorfismo de *CYP2D6* en pacientes con depresión, no se tomó en cuenta el sexo ni la edad, ya que no tienen ningún efecto en el genotipo.
- iv. Los pacientes que aceptaran participar voluntariamente en el estudio.
- v. Los pacientes que firmaran la hoja de consentimiento informado.

5.1.2 Criterios de exclusión

- i. Los pacientes que no consumieran fármacos antidepresivos que sean metabolizados por la enzima *CYP2D6*.
- ii. Que uno de los miembros de las dos generaciones fuera de procedencia extranjera, excepto un abuelo español.
- iii. Que no aceptaran participar voluntariamente en el estudio.
- iv. Los pacientes que no firmaran la carta de consentimiento informado.

Nota: Para determinar el polimorfismo del gen *CYP2D6*, se creó un banco de ADN de los 62 pacientes con depresión que participaron en este estudio.

5.2 DETERMINACIÓN DEL POLIMORFISMO *3 Y *4 DEL GEN *CYP2D6*

La metodología que se realizó en esta investigación se muestra en la Figura No. 12, donde se explica cada uno de los pasos a seguir de manera independiente, desde la toma de muestra de sangre periférica de los pacientes con depresión hasta la realización de la electroforesis.

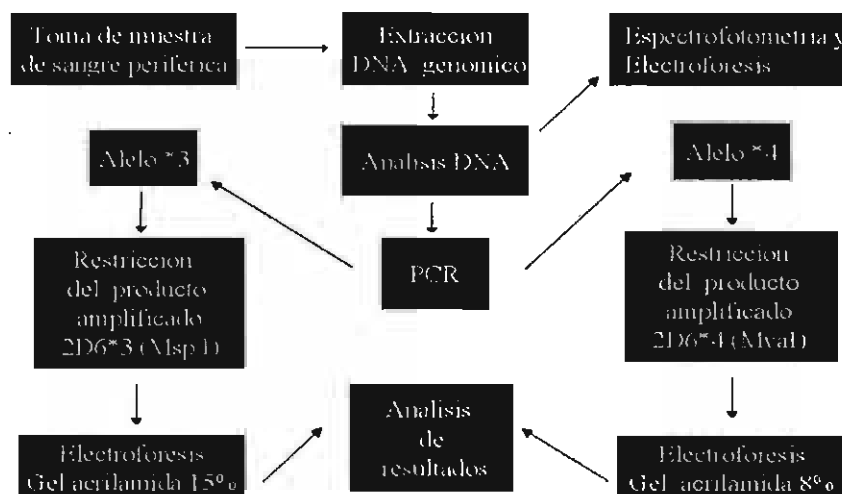


Figura No. 12, Representación de la metodología que se realizó en esta investigación desde la toma de muestra de sangre periférica de pacientes con depresión hasta el análisis de resultados.

5.2.1 Toma de muestra de sangre periférica

A cada paciente con depresión se le tomó una muestra de 20 ml de sangre periférica, utilizando como anticoagulante Ácido Cítrico Dextrosa (ACD). La extracción de sangre venosa se llevó a cabo por personal capacitado, con material nuevo, estéril y desechable, bajo condiciones rigurosas de higiene y seguridad. Los tubos con la muestra de sangre se rotularon con el nombre del paciente, su número de expediente y fecha de extracción. Las muestras se almacenaron en un refrigerador a 4°C.

5.2.2 Extracción de ADN genómico

A partir de la muestra de sangre periférica de los pacientes con depresión, se obtuvo el paquete de leucocitos (células que contienen el material genético) por centrifugación a 5000 rpm, a 4°C, durante 10 minutos, haciendo la lisis de eritrocitos con el amortiguador RCLB (Tris 1M, pH 7.0; MgCl₂ 1M; NaCl 5M). La solución salina (NaCl 5M), altera la permeabilidad de la membrana celular, permitiendo que ésta se rompa y libere el ADN, el cual se purificó con extracciones de fenol saturado en una proporción 1:1 v/v para eliminar proteínas y restos celulares, fenol-cloroformo-alcohol isoamílico v/v para eliminar residuos de fenol saturado y por último con cloroformo-alcohol isoamílico el cual elimina los residuos de fenol-cloroformo. Para obtener el material genómico, el ADN se precipitó con isopropanol frío, se lavó con etanol y se secó por centrifugación a 40°C. El ADN se disolvió en agua estéril inyectable y para su rápida disolución, se colocó en un baño maría a 50°C, posteriormente fue almacenado a 4°C (Sambrook *et al*, 1989; Schur *et al*, 2001).

Otra forma de obtener el material genómico fue mediante el estuche comercial QUIAGEN, en la que a partir de la muestra de sangre periférica de los pacientes con depresión, se tomaron 2 mL de ésta y se mezclaron con 2.4 mL de amortiguador AL y 200 µL de proteasa QUIAGEN, se agitaron e incubaron a 70°C durante 10 minutos. Posteriormente se agregaron 2 mL de etanol (96-100%) y mezclaron nuevamente. Se transfirieron 3.3 mL de la mezcla a una columna (QIAamp Midi Colum) y se centrifugó a 3000 rpm durante 3 minutos a 20°C. Se desechó el filtrado y el remanete se cargó y se centrifugó. Una vez que se terminó este proceso, se agregó a la columna 2 mL de amortiguador AW1 y se centrifugó a 5000 rpm/2 minutos y finalmente se agregaron 2 mL de amortiguador AW2 en la misma columna, centrifugándose a 5000 rpm/15 minutos. La columna se removió a otro tubo limpio y estéril en el que se le adicionó 300 µL de amortiguador AE o agua destilada, se dejó a temperatura ambiente durante 5 minutos y se centrifugó a 5000 rpm/5 minutos. Para obtener una concentración de ADN máxima, se cargó nuevamente el contenido de ADN en la membrana y se centrifugó. El material de ADN genómico se rotuló y almacenó a 4°C (QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Kit Handbook 09/2001).

5.2.2.1 Equipo

- Baño maría con agitación. Marca OHAUS CORPORATION. Modelo Explorer 12140.
- Balanza analítica. Marca OHAUS CORPORATION
- Bomba de vacío con filtro acoplada a una trampa para colectar desechos biológicos líquidos. Marca POWER ELECTRIC. Modelo 1500.
- Campana de extracción con flujo laminar. Marca VECO.
- Cámara de electroforesis vertical V16.
- Cámara de electroforesis horizontal. Marca HORIZON. Modelo 58.
- Centrífuga con refrigeración y rotor para tubos cónicos de 50 mL, con capuchones para tubos de 15 mL y rotor para microtubos de 1.5 mL. Marca BECKMAN. Modelo GS-6R.
- Centrífuga con vacío, extractor de solventes orgánicos y calentamiento. Marca QUALITRON.
- Equipo fotográfico. Marca POLAROID. Modelo DS-34.
- Equipo para punción venosa.
- Espectrofotómetro. Marca BECKMAN. Modelo DU-40.
- Fuente de poder. Marca POWER/PAC BIO-RAD. Modelo 3000.
- Horno de microondas. Marca SHARP.
- Microcentrífuga refrigerada. Marca EPPENDORF. Modelo 5804R.
- Micropipeta de 1000 µL y 5 mL con puntas estériles.
- Microtubos estériles de 1.5 mL.
- pH metro. Marca BECKMAN.
- QIAamp® DNA Blood Midi Kit de QIAGEN®
- Refrigerador.
- Termociclador. Marca EPPENDORF. Modelo 9600.
- Tubos cónicos estériles de 15 mL. y de 50 mL. con tapa de rosca
- Transiluminador de luz UV. Marca COLE PARMER

5.2.2.2 Reactivos

- Ácido bórico. (Aldrich)
- Ácido cítrico dextrosa (ACD). Vacutainer
- Acrilamida grado electroforético. (Sigma)
- Agarosa grado electroforético. (Sigma)
- Agua grado inyectable.
- Amortiguador AE (Elution Buffer) QIAGEN®
- Amortiguador AL (Lysis Buffer) QIAGEN®
- Amortiguador AW 1 QIAGEN®
- Amortiguador AW 2 QIAGEN®
- Amortiguador de lisis RCLB (Tris 1M, pH 7.6, NaCl 5M, Mg Cl₂ 1M).
- Azul de bromo fenol. (Sigma)
- Bromuro de etidio. (R.A. Sigma)
- B-mercaptoetanol. (Sigma)
- Cloroformo. (R.A. Merck)
- Etanol 70%. (J.T. Baker)
- Etanol absoluto. (J.T. Baker)
- Hidróxido de sodio. (R.A. Merck)
- Isopropanol absoluto. (R.A. Merck)
- NaCl 5mM.
- Proteasa QIAGEN®
- SDS 10%.
- Solución de cloroformo y alcohol isoamílico (24:1).
- Solución de fenol saturado.
- Solución de fenol, cloroformo y alcohol isoamílico (25:24:1).
- Solución saturada de NaCl.

NOTA: Véase preparación de soluciones en el Anexo No. 2.

5.2.3 Análisis espectrofotométrico y electroforético de ADN

Las muestras de ADN obtenidas, se analizaron de la siguiente manera:

- 1) Se les asignó una clave de identificación (D: depresión, seguida de un número progresivo y del año en curso).
- 2) A cada muestra de ADN se le realizó un análisis espectrofotométrico con lecturas a 260 nm para ácidos nucleicos y 280 nm para proteínas. La concentración de ADN se calculó con la fórmula: la concentración de ADN = D.O X F.D X F.C; donde D.O es la densidad óptica obtenida de la muestra, F.D es el factor de dilución y F.C es el factor de conversión, considerando que 1 D.O a 260 nm es equivalente a 50 ng/μL de ADN. Una relación 260/280 nm es óptima, cuando el rango de pureza está dentro del 1.8 a 2.0.
- 3) Se analizaron alícuotas de 1-4 μg de ADN por electroforesis en gel de agarosa 0.8%, teñido con bromuro de etidio, para observar la integridad del ADN obtenido. La cantidad de ADN se estimó al comparar la fluorescencia producida por las muestras contra la de un marcador de peso molecular que posee un patrón de bandas con pesos específicos y conocidos (Sambrook *et al*, 1989; Schur *et al*, 2001).

5.2.4 Genotipificación de *CYP2D6*

Con el fin de detectar las posibles mutaciones puntuales en los pacientes incluidos en este estudio con respecto a la enzima *CYP2D6* se emplearon las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) así como de fragmentos de restricción de longitud variable (RFLP). La combinación de PCR-RFLP permitió determinar el patrón tipo silvestre, el patrón de alelos mutantes heterocigotos y el patrón de alelos mutantes homocigotos, utilizando para ello los oligonucleótidos y las enzimas de restricción específicas para este gen. La técnica de PCR se utilizó para amplificar una región del exón 5 del gen *CYP2D6*. Esta técnica se llevó a cabo mediante ciclos repetitivos de tres eventos; desnaturalización, alineación y extensión a diferentes temperaturas. La amplificación de ambos alelos

*CYP2D6*3* y *CYP2D6*4* se realizó mediante un protocolo modificado en base al planteado por Schur *et al*, 2001. Se amplificaron regiones específicas de los alelos *CYP2D6*3* (A₂₆₃₇) y *CYP2D6*4* (G₁₉₃₄A) a partir del ADN genómico de cada paciente, para lo cual, se emplearon los oligonucleótidos que se muestran en la Tabla No. 4 (Schur *et al*, 2001).

Tabla No. 4, Secuencia de los oligonucleótidos y enzimas de restricción empleadas para la determinación genotípica de los alelos de *CYP2D6*

Oligonucleótido	Secuencia	Enzima
CYP2D6 *3		
2D6*3 A	5'- GAT GAG CTG CTA ACT GAG CC -3'	Msp I (Hpa II)
2D6*3 B	5'- CCG AGA GCA TAC TCG GGA C -3'	
CYP2D6 *4		
2D6*4 A	5'- GCC TTC GCC AAC CAC TCC G -4'	Mva I (Eco R II)
2D6*4 B	5'- AAA TCC TGC TCT TCC GAG GC -3'	

(Tomada de Schur *et al*, 2001)

A cada reacción de PCR, se le añadió Taq PCR Master MIX, DMSO, agua esterilizada, una concentración de 100 ng/μL de cada oligonucleótido (tomando en cuenta las condiciones del proveedor), así como una concentración de ADN para un volumen final de 30 μL. En la Tabla No. 5, se muestra la mezcla de reacción de PCR para la amplificación de los fragmentos de interés en la determinación genotípica de los alelos *CYP2D6*3* y **4*.

Tabla No. 5, Mezcla por reacción de PCR para la amplificación de los fragmentos de interés en la determinación genotípica de los alelos *CYP2D6*3* y **4*

Mezcla	<i>CYP2D6*3</i>	<i>CYP2D6*4</i>
ADN [≥ 100 ng/μL]	3 – 9 μL	3 – 9 μL
<i>2D6*3 A</i>	2.0 μL	-----
<i>2D6*3 B</i>	2.0 μL	-----
<i>2D6*4 A</i>	-----	2.0 μL
<i>2D6*4 B</i>	-----	2.0 μL
Master MIX	15 μL	15 μL
DMSO (5%)	1.5 μL	1.5 μL
Agua grado inyectable	cbp 30 μL	Cbp 30 μL

(Tomada de Schur *et al*, 2001)

En la Tabla No. 6, se muestran las condiciones de reacción tanto para la *CYP2D6*3* y *CYP2D6*4*, las cuales se llevaron a cabo en un termociclador EPPENDORF Mastercycler Gradient. Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 3%, teñidos con bromuro de etidio y visualizados bajo luz ultravioleta. Estas muestras fueron almacenadas a 4°C (Sachse *et al.*, 1998; Schur *et al.*, 2001).

Tabla No. 6, Condiciones de amplificación para los pares de oligonucleótidos

Oligonucleótido	Condiciones
<i>CYP2D6*3</i>	94° 5 min / 94° 1 min, 58° 1 min, 72° 1.5 min (40 ciclos) / 72° ≤10 min
<i>CYP2D6*4</i>	94° 5 min / 94° 1 min, 60° 1 min, 72° 1.5 min (30 ciclos) / 72° ≤10 min

(Tomada de Schur *et al.*, 2001)

Posteriormente a la amplificación, los productos del PCR fueron digeridas con su respectiva enzima de restricción como se muestra en la Tabla No. 4. La utilización de la enzima *Msp I* (*Moraxella species*) 5' C/CGG 3' amortiguador basal (10 mM Tris-HCl pH 7.4, 10 mM MgCl₂, 60 mM NaCl, 10 mM 2-Mercaptoetanol y 0.01% BSA), 10 µL. de producto amplificado (*CYP2D6*3*), amortiguador 10^x T (330 mM Tris-acetato pH 7.9, 100 mM Mg-acetato, 5 mM Ditiotretol y 660 mM K-acetato) con albúmina sérica bovina libre (0.1% BSA-libre) y la cantidad suficiente de agua inyectable para completar 15 µL de volumen final (ver Tabla No. 7), permitieron obtener los fragmentos de restricción específicos para los homocigotos mutados (*3/*3), los homocigotos normales (*1/*1) y los heterocigotos (*1/*3) para el alelo *CYP2D6*3*. Estas reacciones se mantuvieron a baño maría a 37°C durante 3 horas. Esta enzima reconoce la secuencia de CCGG, cortando entre las dos citosinas, como se aprecia en la Figura No. 13 (Schur *et al.*, 2001).

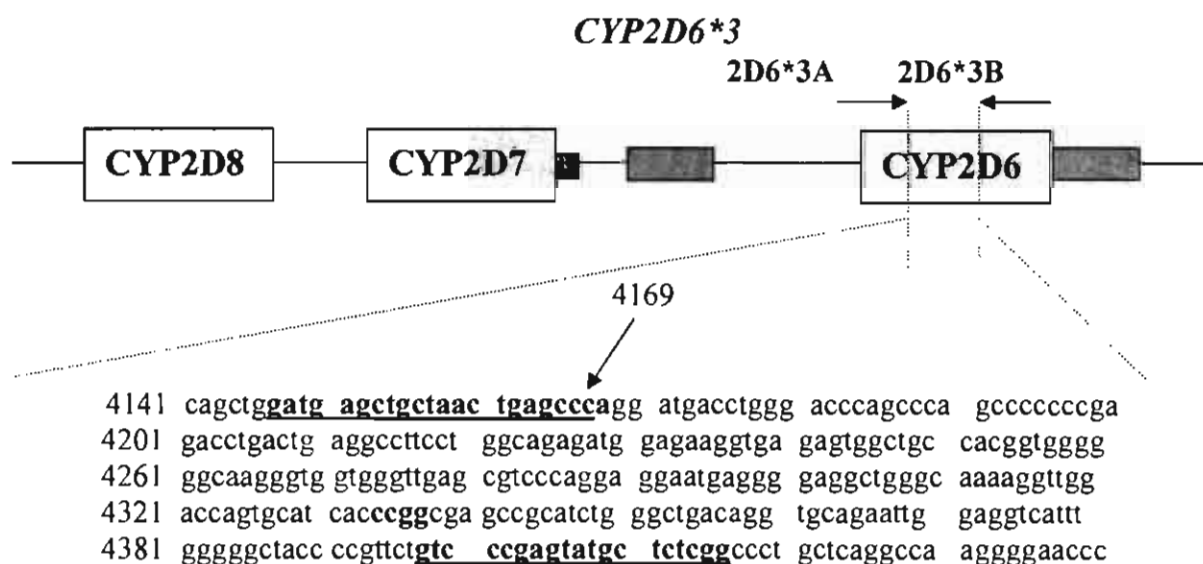


Figura No. 13, Secuencia amplificada del alelo *CYP2D6*3* con un total de 270 pares de bases. Las secuencias subrayadas representan los oligonucleótidos que flanquean la región de interés. La secuencia **ccgg** representa el sitio de corte específico de la enzima *Msp I*. La adenina (a) en la posición 4169 representa la mutación característica de este alelo, que consiste en la delección de la misma, generándose otro sitio de reconocimiento en donde actúa la enzima de restricción.

Por otro lado, la utilización de la enzima *Mva I* (*Micrococcus varians*) 5' CC (A/T) GG 3' amortiguador basal (10 mM Tris-HCl pH 8.5, 15 mM MgCl₂, 150 mM KCl, 1 mM DTT y 0.01% BSA), 10 µL de producto amplificado (*CYP2D6**4), amortiguador 10^x K (200 mM Tris-HCl pH 8.5, 100 mM MgCl₂, 10 mM Ditioneitol y 1000 mM KCl) y la cantidad suficiente de agua inyectable para completar 20 µL de volumen final (ver Tabla No. 7), permitieron obtener los fragmentos de restricción específicos para los homocigotos mutados (*4/*4), los homocigotos normales (*1/*1) y los heterocigotos (*1/*4) para el alelo *CYP2D6**4. Estas reacciones se mantuvieron a baño maría a 37°C durante 2 horas. Esta enzima reconoce la secuencia de CCAGG, cortando entre la adenina y la guanina, como se aprecia en la Figura No. 14 (Schur *et al*, 2001).

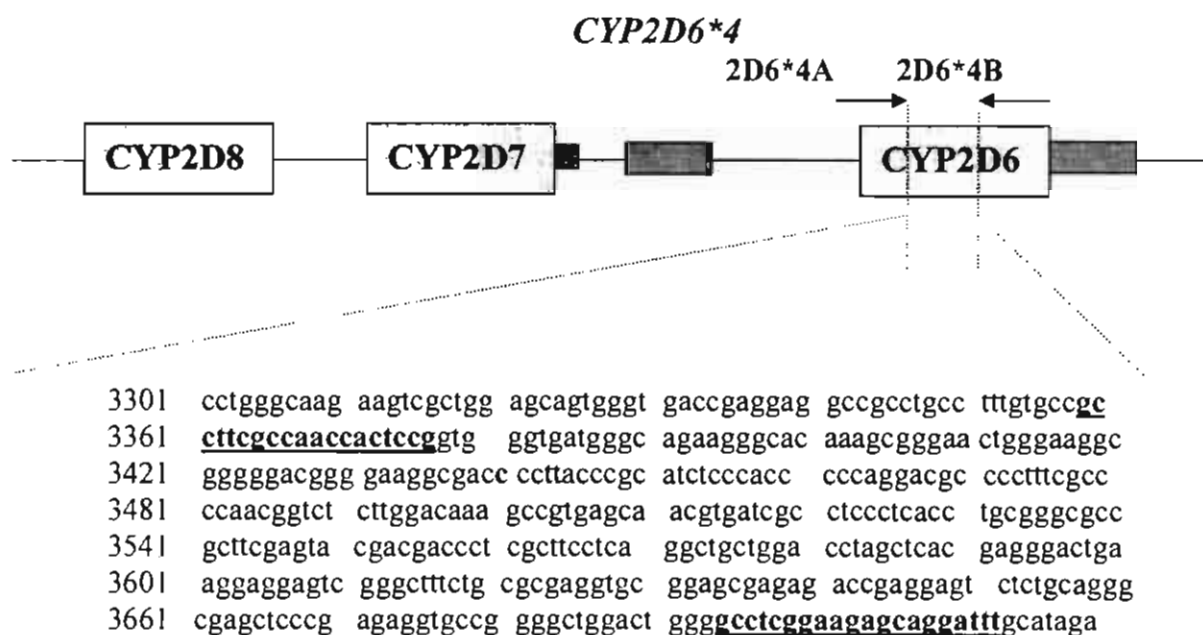


Figura No. 14. Secuencia amplificada del alelo *CYP2D6**4 con un total de 350 pares de bases. Las secuencias subrayadas representan los oligonucleótidos que flanquean la región de interés. La secuencia **ccagg** representa el sitio de corte específico de la enzima *Mva I*. La guanina (g) en la posición 1934 representa la mutación característica de este alelo, que consiste en la sustitución de una G por una A.

Tabla No. 7. Mezcla por RFLP para la obtención de los fragmentos de interés en la determinación genotípica de los alelos *CYP2D6**3 y *4

Mezcla	<i>CYP2D6</i> *3	<i>CYP2D6</i> *4
Producto de amplificación *3	10 µL	-----
Producto de amplificación *4	-----	10 µL
<i>Msp I</i> 2U [10U/µL]	0.1 µL	-----
<i>Mva I</i> 2U [10U/µL]	-----	0.2 µL
Amortiguador 10 ^x T	1.5 µL	-----
amortiguador 10 ^x K	-----	2 µL
BSA [0.1 %]	3 µL	-----
Agua grado inyectable	Cbp 15 µL	Cbp 20 µL

(Tomada de Schur *et al*, 2001)

VII. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

Hasta la fecha no se ha reportado ningún trabajo que estudie la frecuencia del polimorfismo del gen *CYP2D6* en pacientes con depresión, por lo que se dan a conocer las frecuencias encontradas tanto del alelo funcional *CYP2D6*1*, como el de los alelos no funcionales *CYP2D6*3* y *CYP2D6*4*.

- El alelo que se presentó con mayor frecuencia en pacientes con depresión fue el alelo funcional *CYP2D6*1* (81%).
- El alelo menos frecuente en los pacientes con depresión fue el alelo no funcional *CYP2D6*3* (3%).
- El alelo no funcional *CYP2D6*4* se presentó en un 16% en pacientes con depresión.
- El genotipo homocigoto normal (*1/*1) se presentó con una frecuencia del 63%.
- El genotipo heterocigoto (*1/*3), se presentó en un 6% en los pacientes con depresión. El genotipo homocigoto mutante (*3/*3), no se presentó en este trabajo.
 - ✓ No significa que no esté presente en los pacientes con depresión.
 - ✓ Debido a que su frecuencia es muy baja, se recomienda aumentar el número de pacientes con depresión, para poder obtener su frecuencia.
- El genotipo heterocigoto (*1/*4) tuvo una frecuencia del 29%.
- Finalmente se presentó un caso de genotipo homocigoto mutado (*4/*4) con una frecuencia del 2%.
- El 98% de los pacientes presenta un fenotipo metabolizador extenso, indicando que presentan una actividad enzimática normal.

Durante la investigación se logró comprender cómo el metabolismo de los fármacos está controlado por genes y entender que las reacciones adversas de numerosos fármacos obedecen a variaciones en las secuencias de los genes que codifican para las distintas enzimas del citocromo P450. Por lo tanto, el estudio genético de estas enzimas es muy importante en farmacogenética, para poder clasificar a los individuos en función de su genotipo, el cual condiciona la velocidad del metabolismo de un medicamento; esta heterogeneidad se refleja tanto en su toxicidad como en su eficacia terapéutica.

VIII. GLOSARIO

ADN genómico: Es el ADN total de origen nuclear.

ADN de interés: Indica la región de ADN genómico que se pretende amplificar mediante PCR.

Alelo: Es una de varias formas alternativas de un gen que ocupa un *locus* dado en un cromosoma.

Amplificación: Se refiere a la producción de copias adicionales de una secuencia cromosómica.

Cromosoma: Es una unidad discreta del genoma que transporta muchos genes. Cada cromosoma consiste en una molécula muy larga de ADN dúplex y una masa aproximadamente igual de proteínas. Solo es visible como entidad morfológica durante la división celular.

Cromosoma homólogo: Son cromosomas que transportan los mismos *loci* genéticos; una célula diploide tiene dos copias de cada homólogo, una derivada de cada progenitor.

Desnaturalización del ADN: Describe su conversión desde la cadena doble al estado de cadena sencilla; la separación de las cadenas se consigue mediante calentamiento.

Digestión de ADN: Es el procedimiento mediante el cual se obtienen fragmentos de ADN amplificado por acción de una enzima de restricción.

Endonucleasa: Son enzimas que rompen uniones dentro de una cadena de un ácido nucleico.

Enzima de restricción: Son las enzimas que reconocen y cortan secuencias cortas específicas del ADN y rompen el dúplex.

Exón: Son secuencias de DNA que codifican proteínas y están interrumpidas por otras secuencias de ADN llamadas intrones.

Fragmentos de Restricción de Longitud Variable (FRLV): Se refiere a diferencias heredadas en los sitios de corte para las enzimas de restricción (por ejemplo, producidos por cambios de bases en el lugar diana) que dan lugar a diferencias en las longitudes de los fragmentos producidos por separaciones con la correspondiente enzima de restricción.

Fenotipo: Es el aspecto u otras características de un organismo, que resulta de la interacción de su constitución genética con el medio.

Frecuencia de mutación: Es la frecuencia con que un gen mutante particular se encuentra en la población.

Genotipo: Es la constitución genética de un organismo.

Gen: Es el segmento de ADN involucrado en codificar una cadena polipeptídica; comprende regiones que preceden y siguen a la región codificadora así como secuencia intermedias (intrones) entre segmentos codificadores individuales (exones).

Genotóxico: Intermediario electrofílico que daña al ADN.

GSH transferasa: Familia de enzimas que se localiza en el hepatocito.

Heterocigoto: Es un individuo con diferentes alelos en el mismo locus.

Homocigoto: Es un individuo con el mismo alelo en el mismo locus.

Intrón: Es cualquier segmento de ADN codificable o que está representado en el producto del ARN maduro. Es un segmento de DNA (no codificable) que se transcribe junto con los exones a moléculas de ARN y son eliminados durante el corte y empalme ARN.

Kilobases: Es una abreviatura correspondiente a mil pares de bases de ADN o mil bases de ARN.

Locus: Es la posición en un cromosoma en la que reside un gen para un rasgo particular.

Marcador de peso molecular: Es un fragmento de tamaño conocido que se usa para calibrar un gel de electroforesis.

Mutación: Describe cualquier cambio en la secuencia de nucleótidos del ADN.

Mutaciones puntuales: Son cambios que afectan a un solo par de bases a la vez dentro del ADN.

Oligonucleótidos: Son secuencias cortas de ADN, complementarias a las regiones que flanquean una región de interés en la secuencia de ADN genómico. Generalmente tienen tamaños de aproximadamente 20 pb.

Palíndromo: Es una secuencia de ADN que es la misma cuando una cadena se lee de izquierda a derecha, o la otra se lee de derecha a izquierda; consta de repeticiones invertidas o adyacentes.

Pares de bases: Es un apareamiento de una Adenina con Timina o de una Citosina con Guanina en una doble hélice de ADN.

Polimorfismo: Se refiere a la presencia simultánea en la población, de genomas que muestran variaciones alélicas (como se ven bien en los alelos que producen fenotipos diferentes o, por ejemplo, en cambios en el ADN que afecta el patrón de restricción).

Taq ADN polimerasa: ADN polimerasa obtenida de *Thermophilus aquaticus*, la cual es resistente a altas temperaturas y se emplea en las reacciones de PCR.

IX. ANEXOS

9.1 ANEXO No. 1

El protocolo se ajustó a los lineamientos de la Declaración de Helsinki. Los pacientes que participaron en esta investigación fueron voluntarios y se incluyeron en la muestra después de aceptar y firmar la carta de consentimiento informado, que a continuación se presenta.



INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA “MANUEL VELASCO SUÁREZ”

INSURGENTES SUR No. 3877
C P 14269 MEXICO, D F
TEL. 5606-3822

ESTUDIO FARMACOGENÓMICO EN POBLACIÓN MEXICANA NORMAL Y EN PACIENTES NEUROPSIQUIÁTRICOS

- 1.- Me han informado que en el Departamento de Neurogenética y Laboratorio de Neuropsicofarmacología del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN) están realizando junto con el Departamento de Sistemas Biológicos de la Universidad Autónoma Metropolitana un estudio para investigar como se transforman algunos medicamentos en el organismo y que variantes hereditarias tienen los genes que producen las sustancias (proteínas) que intervienen en la transformación de dichos medicamentos en la población mexicana
- 2 - Se me ha informado que mi participación en este estudio es voluntaria, si soy paciente del I.N.N.N. y si no deseo colaborar en este estudio en nada se afectará la atención que el Instituto me proporciona.
- 3.- Si acepto participar se me tomarán una muestra de sangre de 20 mL para extraer el DNA que es el material hereditario (No necesito ir en ayunas para esta toma de sangre).
- 4 - He sido informado que las agujas y tubos con los cuales se me tomará la sangre son desechables. No recibiré ningún resultado, pues este proyecto aún está en etapa de investigación.
- 5 - He sido informado que puedo abandonar el estudio en el momento que yo lo desee
- 6 - Se me ha informado que para cualquier duda o aclaración respecto a este estudio puedo comunicarme al 56 06 38 22 con la Dra. Ma. Elisa Alonso y Dra. Marisol López López a la extensión 2022, con la Dra. Helgi Jung a la extensión 2017 y con el Q.F.B. Jorge Guerrero a la extensión 2018.
- 7 - Estoy de acuerdo que la información clínica derivada del estudio de mi caso sea comunicada a la comunidad médica verbalmente o por escrito, pero sin revelar mi identidad
- 8 - He leído esta forma de consentimiento, me han aclarado las dudas que he tenido acerca del estudio y he decidido aceptar en participar en esta investigación

Fecha: _____

Nombre del participante: _____

Firma del participante: _____

Nombre del responsable del paciente en caso de incapacidad del paciente _____

Firma del responsable del paciente en caso de incapacidad del paciente _____

Nombre Testigo: _____

Firma Testigo: _____

Nombre Testigo: _____

Firma Testigo: _____

ANEXO No. 1 Continuación...

INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA
"MANUEL VELASCO SUÁREZ"INSURGENTES SUR No. 3877
C.P. 14269 MÉXICO, D.F.
TEL. 5606-3822DETERMINACIÓN DEL FENOTIPO METABOLIZADOR UTILIZANDO
DEXTROMETORFANO

VOLUNTARIO No. _____ No. de Registro _____

NOMBRE DEL VOLUNTARIO: _____
NOMBRE COMPLETO

INICIALES: _____

EDAD: _____ SEXO: _____ PESO: _____ GRUPO SANGUÍNEO: _____

NACIONALIDAD: _____

LUGAR DE NACIMIENTO. CIUDAD _____ ESTADO _____ PAÍS: _____

FECHA Y HORA REAL DE LA ADMINISTRACIÓN _____

VOLUMEN DE DEXTROMETORFANO _____

VOLUMEN DE ORINA RECOLECTADA _____

FECHA DE ANÁLISIS DE LA MUESTRA _____

Conteste el siguiente cuestionario.

1 - La semana previa al estudio, ¿estuvo bajo tratamiento con algún medicamento?, si su respuesta es si indique por favor el nombre de dicho medicamento. _____

2 - ¿Ha ingestado pastillas anticonceptivas o algún tratamiento hormonal en los últimos días? _____

3 - ¿Es fumador?, si su respuesta es si indique por favor el número de cigarros que se fuma diario _____

4 - ¿Ingere bebidas alcohólicas, café o té?, si su respuesta es si indique con que frecuencias los consume _____

5 - Mencione el lugar de nacimiento de sus siguientes familiares

Madre: Ciudad _____ Estado _____ País _____

Padre: Ciudad _____ Estado _____ País _____

Abuelo Paterno Ciudad _____ Estado _____ País _____

Abuela Paterna Ciudad _____ Estado _____ País _____

Abuelo Materno: Ciudad _____ Estado _____ País _____

Abuela Materna: Ciudad _____ Estado _____ País _____

ANEXO No. 1 Continuación...



NOTIFICACIÓN DE REACCIONES ADVERSAS A MEDICAMENTOS (RAM)

Nombre del paciente:	No de Registro:	FECHA:
----------------------	-----------------	--------

I. INFORMACIÓN DEL PACIENTE Y DEL EVENTO ADVERSO

Iniciales del paciente	Fecha de nacimiento			Edad		Sexo		Estatura (cm)	Peso (Kg)	Inicio de la reacción		
	Año	Mes	Día	Años	Meses	☐ F ☐ M	Día			Mes	Año	
Sistema Nervioso Central ☐ Sedación ☐ Fatiga ☐ Disminución de la actividad psicomotora ☐ Somnolencia ☐ Vértigos ☐ Caída leve de la presión arterial Cardiovasculares ☐ Anormalidades en el electrocardiograma ☐ Arritmias ☐ Taquicardia ☐ Muerte súbita Anticolinérgicas ☐ Sequedad bucal ☐ Visión borrosa ☐ Constipación ☐ Retención urinaria ☐ Agravación del glaucoma Reacciones alérgicas ☐ Erupción cutánea ☐ Inflamación de cara y lengua ☐ Prurito ☐ Púrpura y discrasias sanguíneas ☐ Ictericia obstructiva alérgica ☐ Alucinaciones ☐ Delirios ☐ Temblores Efectos colaterales menos frecuentes ☐ Sudoración ☐ Mareos ☐ Insomnio ☐ Anorexia ☐ Pirosis ☐ Fatiga ☐ Náuseas ☐ Vómito ☐ Aumento en la frecuencia urinaria ☐ Hipotensión ortostática ☐ Entumecimiento ☐ Hormigueo en brazos y piernas Misceláneos ☐ Aumento de peso ☐ Crisis convulsivas												

II. INFORMACIÓN DEL MEDICAMENTO

Nombre genérico	Nombre comercial	Dosis
Vía de administración	Inicio Día Mes Año Término Día Mes Año	Motivo de prescripción
¿Se retiró el medicamento? Si No ¿Se cambió la terapia farmacológica? Si ¿A cual? No		¿Desapareció la reacción al suspender el medicamento? Si No No se sabe Si no se retiró el medicamento, ¿Persistió la reacción? Si No
¿Se disminuyó la dosis? Si ¿A cuanto? No		¿Reapareció la reacción al readministrar el medicamento? Si No No se sabe

ANEXO No. 1 Continuación...

III. MEDICAMENTOS CONCOMITANTES E HISTORIA CLÍNICA

(Excluyendo los medicamentos usados para tratar el evento adverso)

Medicamento	Dosis	Vía de administración	Fechas Inicio-Término		Motivo de prescripción

Datos Importantes de la Historia Clínica (Ej. Diagnósticos, alergias, embarazos, cirugía previa, datos de laboratorio, etc.)

9.2 ANEXO No. 2

- ✓ Amortiguador de lisis de glóbulos rojos (RCLB)

Cantidad para preparar 1 L de solución

- TRIS 1 M pH 7.6 10 mL
- MgCl_2 1 M 5 mL
- NaCl 5 M 2 mL
- Aforar con agua desionizada estéril

NOTA: Esterilizar por filtración ($\varnothing$ 0.22 μm), almacenar a temperatura ambiente.

- ✓ TRIS 1 M

Cantidad para preparar 1 L de solución

- 121.4 g de TRIS-base SIGMA®
- ajustar pH con HCl concentrado
 - ❖ pH 7.4 70 mL
 - ❖ pH 7.6 60 mL
 - ❖ pH 8.0 42 mL
- Aforar con agua desionizada estéril

NOTA: Esterilizar en autoclave (15 psi), almacenar a temperatura ambiente.

- ✓ Cloruro de Magnesio (MgCl_2) 1 M

Cantidad para preparar 1 L de solución stock

- MgCl_2 1 M 203.3 g
- Aforar con agua desionizada estéril

NOTA: Esterilizar en autoclave (15 psi), almacenar a temperatura ambiente.

- ✓ Cloruro de Sodio (NaCl) 5 M

Cantidad para preparar 1 L de solución stock

- NaCl 5 M 292.5 g
- Aforar con agua desionizada estéril

NOTA: Esterilizar en autoclave (15 psi), almacenar a temperatura ambiente.

- ✓ Dodecil sulfato de sodio (SDS) 10% pH 7.2

Cantidad para preparar 1 L de solución

- SDS grado electroforético 100.0 g
- Agua desionizada estéril 900.0 mL
- Disolver a 68° C
- Ajustar el pH a 7.2 con HCL (0.5 M)

NOTA: Almacenar a temperatura ambiente.

ANEXO No. 2 Continuación...

✓ Solución de Fenol saturado

Cantidad necesaria para preparar aprox. 1 L de solución

- Fundir fenol saturado en baño maría a 68° C
- 480 mL de fenol fundido
- 320 mL de agua desionizada estéril
- 3.2 mL de β-Mercaptanol
- 6.4 mL de TRIS 1 M pH 8.0
- 480 mg de 8-Hidroxiquinolina
- Mezclar la solución toda la noche protegiéndola de la luz
- Ajustar el pH a 7.6 con NaOH 20 N

NOTA: Almacenar a 4° C.

✓ Solución de fenol : cloroformo : alcohol isoamílico

Cantidad necesaria para preparar 500 mL de solución (25 : 24 : 1)

- Solución de fenol saturado 250 mL
- Cloroformo (absoluto) 240 mL
- Alcohol isoamílico (absoluto) 10 mL

NOTA: Almacenar a 4° C.

✓ Solución de cloroformo : alcohol isoamílico

Cantidad necesaria para preparar 500 mL de solución (24 : 1)

- Cloroformo (absoluto) 480 mL
- Alcohol isoamílico (absoluto) 20 mL

NOTA: Almacenar a 4° C.

✓ Amortiguador TRIS – Borato (TBE 10 X)

Cantidad necesaria para preparar 2 L de solución stock

- TRIS-base SIGMA® 216.0 g
- Ácido bórico 110.0 g
- EDTA 18.6 g
- Aforar con agua desionizada estéril

NOTA: Almacenar a temperatura ambiente.

✓ Bromuro de etidio (10 mg/mL)

Cantidad necesaria para preparar 5 mL de solución stock

- Bromuro de etidio 50.0 mg
- Agua desionizada estéril 5.0 mL

NOTA: Almacenar a temperatura ambiente.

ANEXO No. 2 Continuación...

- ✓ Gel de agarosa al 0.8%

Cantidad necesaria para preparar 250mL de gel

- Agarosa 2 g
- Amortiguador TBE 0.5 X 248 mL
- Disolver y homogeneizar con calentamiento

NOTA: Almacenar a temperatura ambiente.

- ✓ Gel de agarosa al 3.0%

Cantidad necesaria para preparar 250mL de gel

- Agarosa 7.5 g
- Amortiguador TBE 0.5 X 242.5 mL
- Disolver y homogeneizar con calentamiento

NOTA: Almacenar a temperatura ambiente.

- ✓ Gel de poliacrilamida al 8.0%

Cantidad necesaria para preparar 70.042mL de gel

- Agua desionizada estéril 2 g
- Amortiguador TBE 10 X 7.0 mL
- Acrilamida al 40% 14.0 mL
- Persulfato de sodio al 10% 700.0 µL
- TEMED (N,N,N',N'-Tetrametiletilendiamina) 42.0 µL

NOTA: Almacenar a temperatura ambiente.

- ✓ Acrilamida al 40%

Cantidad para preparar 500 mL de solución

- Acrilamida 193.35 g
- Bisacrilamida 6.65 g
- Disolver en agua desionizada estéril 250 mL
- Llevar a 500 mL con agua desionizada estéril 50 mL

NOTA: Proteger de la luz y almacenar a 4° C.

- ✓ Colorante para geles no desnaturalizantes

- Azul de bromofenol 0.25%
- Xilén cianol FF 0.25%
- Glicerol 30.0%
- Agua desionizada estéril 69.5%

NOTA: Almacenar a 4° C.

9.3 ANEXO No. 3

Aquí se presenta el banco de ADN genómico de los 62 pacientes con depresión que participaron en esta investigación. Se muestra a su vez las concentraciones de ADN genómico, su pureza, y además los resultados de los dos alelos no funcionales del gen *CYP2D6* (*3 y *4) en estudio.

Paciente	ADN [ng/ μ L]	ADN pureza	<i>CYP2D6</i> *4	<i>CYP2D6</i> *3
DM01-02	455	1.71	*4/*4	*1/*1
DF02-02	380	1.96	*1/*1	*1/*1
DF03-02	420	2.05	*1/*1	*1/*1
DF04-02	390	2.06	*1/*1	*1/*1
DF05-02	400	1.73	*1/*1	*1/*1
DM06-02	310	1.84	*1/*4	*1/*1
DF07-02	650	1.63	*1/*4	*1/*1
DM08-02	710	2.47	*1/*1	*1/*1
DF09-02	565	1.95	*1/*1	*1/*1
DF10-02	840	1.95	*1/*1	*1/*1
DM11-02	375	2.14	*1/*1	*1/*1
DF12-02	455	2.02	*1/*1	*1/*1
DF13-02	345	2.08	*1/*4	*1/*1
DF14-02	625	2.08	*1/*4	*1/*1
DF15-02	750	1.98	*1/*4	*1/*1
DM16-02	625	2.07	*1/*4	*1/*1
DM17-02	570	1.89	*1/*1	*1/*1
DM18-02	380	1.57	*1/*4	*1/*1
DF19-02	455	1.92	*1/*1	*1/*1
DF20-02	865	1.87	*1/*1	*1/*1
DF21-02	765	2.07	*1/*1	*1/*3
DF22-02	740	2	*1/*1	*1/*1
DM23-02	590	2.06	*1/*4	*1/*1
DF24-03	685	2	*1/*1	*1/*1
DF25-03	780	2.03	*1/*1	*1/*1
DF26-03	620	2.04	*1/*1	*1/*3
DM27-03	535	2.1	*1/*1	*1/*1
DF28-03	495	1.87	*1/*4	*1/*1
DM29-03	685	1.98	*1/*4	*1/*1
DM30-03	485	1.86	*1/*4	*1/*1



Homocigotos normales (*1/*1)



Heterocigotos para el *3 (*1/*3)



Homocigoto mutado (*4/*4)



Heterocigotos para el *4 (*1/*4)

ANEXO No. 3 Continuación...

Paciente	ADN [ng/μL]	ADN pureza	CYP2D6*4	CYP2D6*3
DF31-03	765	2.1	*1/*1	*1/*1
DF32-03	790	2.09	*1/*1	*1/*1
DF33-03	860	2.19	*1/*1	*1/*1
DF34-03	680	2.12	*1/*1	*1/*1
DF35-03	575	2.17	*1/*1	*1/*1
DF36-03	480	2.17	*1/*1	*1/*1
DF37-03	650	2.21	*1/*4	*1/*1
DF38-03	925	2.08	*1/*4	*1/*1
DM39-03	865	2	*1/*4	*1/*1
DM40-03	870	2	*1/*4	*1/*1
DM41-03	905	1.77	*1/*1	*1/*1
DF42-03	760	1.83	*1/*1	*1/*1
DF43-03	565	1.83	*1/*1	*1/*1
DM44-03	354	1.95	*1/*1	*1/*1
DF45-03	590	1.8	*1/*1	*1/*1
DF46-03	485	1.8	*1/*1	*1/*1
DF47-03	765	1.75	*1/*1	*1/*1
DM48-03	790	1.9	*1/*1	*1/*1
DF49-03	860	2.1	*1/*1	*1/*1
DM50-03	595	2.3	*1/*1	*1/*1
DF51-03	865	2.2	*1/*1	*1/*1
DF52-03	620	2.2	*1/*1	*1/*1
DF53-03	610	2.45	*1/*4	*1/*1
DM54-03	715	1.75	*1/*1	*1/*1
DF55-03	920	1.71	*1/*1	*1/*1
DM56-03	780	1.65	*1/*1	*1/*1
DF57-03	490	1.86	*1/*1	*1/*3
DF58-03	415	1.71	*1/*1	*1/*1
DF59-03	980	1.86	*1/*1	*1/*1
DF60-03	630	2.2	*1/*4	*1/*1
DF61-03	380	1.7	*1/*1	*1/*3
DF62-03	410	1.74	*1/*4	*1/*1



Homocigotos normales (*1/*1)



Heterocigotos para el *3 (*1/*3)



Homocigoto mutado (*4/*4)



Heterocigotos para el *4 (*1/*4)

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Abrams R, Taylor M. (1996). A comparison of unipolar and bipolar depressive illness. *Am J Psychiatry*. 137: 1084-1087.
2. Agundez J, Ledesma M, Ladero J, Benítez J. (1994). Prevalence of *CYP2D6* gene duplication and its repercussion on the oxidative phenotype in a white population. *Clin Pharmacol Ther*. 57: 265-269.
3. Akiskal H. (1995). Mood disorders. In Kaplan H. & Sadock B. Comprehensive Textbook of Psychiatry. 6th ed., W & W. Baltimore, USA.
4. Aklillu E, Persson I, Bertilsson L, Johansson I, Rodríguez F, Ingelman-Sundberg M. (1996). Frequency distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an Ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional *CYP2D6* alleles. *J Pharmacol Exp Ther*. 278: 441-446.
5. American Psychiatric Association. (1995). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 8th ed., Revised. APA Press, Inc., Washington, D.C.
6. Aronson T, Manns E. (1988). Proposed delusional depression subtypes: preliminary evidence from a retrospective study of phenomenology and treatment course. *J Affect Disord*. 14: 69-74.
7. Asberg M, Bertilsson L, Martensson B. (1984). CSF monoamine metabolites in melancholia. *Acta Psychiatr Scand*. 69: 201-219.
8. Asnis G, Manns E. (1981). Endocrine response to thyrotropin-releasing hormone in major depressive disorders. *Psychiatry Res*. 5.
9. Bathum L, Johansson I, Ingelman-Sundberg M, Horder M, Brogren K. (1998). Ultrarapid metabolism of sparteine: frequency of alleles with duplicated *CYP2D6* genes in a Danish population as determined by restriction fragment length polymorphism and long polymerase chain reaction. *Pharmacogenetics*. 8: 119-123.
10. Beckmann H, Goodwin F. (1975). Antidepressant response to tricyclics and urinary MHPG in unipolar patients. *Arch Gen Psychiatry*. 32: 17-21.
11. Blacker C, Clare A. (1987). Depressive disorder in primary care. *Br J Psychiatry*. 150: 737.
12. Brogren K, Hansen J, Nielsen K, Sindrup S, Gram L. (1993). Inhibition by paroxetine of desipramine metabolism in extensive but not poor metabolizers of sparteine. *Eur J Clin Pharmacol*. 44: 349-55.
13. Bruce A, Dennis B, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson J. (1994). Molecular Biology of The Cell. 3th ed. New York & London.
14. Caraveo J, y col. (1999). *Revista Salud Mental*. 22(2): 1-25.
15. Cervantes P, López L, Sandoval H, Del Muro R. (2001). ¿Farmacia, Farmacogenética, Farmacogenómica?. *Rev Mex Cien Farm*. 32(4): 11-19.
16. Charney D, Nelson J. (1995). Delusional and nondelusional unipolar depression: further evidence for distinct subtypes. *Am J Psychiatry*. 138:328-333.
17. Dahl M, Johansson I, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M, Sjöqvist F. (1995a). Ultrarapid hydroxylation of debrisoquine in a Swedish population. Analysis of the molecular genetic basis. *J Pharmacol Exp Ther*. 274: 516-520.
18. Dahl M, Yue K, Roh H, Johansson I, Säwe J, Sjöqvist F, Bertilsson L. (1995b). Genetic analysis of the *CYP2D6* locus in relation to debrisoquine hydroxylation capacity in Korean, Japanese and Chinese subjects. *Pharmacogenetics*. 5: 159-164.
19. Daly A, Brockmoller J, Broly F, Eichelbaum M, Evans W, González E, Huang J, Idle J. (1996). Nomenclature for Human *CYP2D6* alleles. *Pharmacogenetics*. 6: 193-201.
20. Destenaves B, Thomas F. (2000). New advances in pharmacogenomics. *Curr Opin Chem Biol*. 4: 440-444.
21. DeVane C. (1994). Pharmacogenetics and drug metabolism of newer antidepressant agents. *J Clin Psychiatry*. 55(suppl): 38.

-
22. Dirección General de Enseñanza en Salud, SSA. (1999).
 23. Eisenberg L. (1992). Treating depression and anxiety in primary care: closing the gap between knowledge and practice. *N Engl J Med*. 326: 1080-1084.
 24. Fossi M, Renzoni A, Mattei N, Lari L. (1993). Contaminants in the Environment. CRC Press, Inc. Washington, D.C. Página 286. <http://www.smu.org.uy/publicaciones/rmw/1997v2/estevez.htm>
 25. Frank E, Eisenberg L. (1984). Biological and clinical predictors of response of recurrent depression. *Psychiatry Res*. 13.
 26. Gaedigk A, Ruseell G, Forbes N, Simon S, Kearns G, Leeder J. (1999). Optimization of cytochrome P4502D6 (CYP2D6) phenotype assignment using a genotyping algorithm based on allele frequency data. *Pharmacogenetics*. 9: 669-682.
 27. Garcia-Sevilla J. (1989). The platelet alpha-2 adrenoceptor as a potential biological marker in depression. *Br J Psychiatry*. 154 (suppl. 4): 67-72.
 28. Goodman A. (1991). Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8th ed. Editorial Médica Panamericana; México. pp. 381-432.
 29. Griesse E, Zanger U, Brudermanns U, Gaedigk A, Mikus G, Mörike K. (1998). Assessment of the predictive power of genotypes for the in-vivo catalytic function of CYP2D6 in a German population. *Pharmacogenetics*. 8: 15-26.
 30. Griesse E, Asante-Poku S, Ofori-Adjet D, Mikus G, Eichelbaum M. (1999). Analysis of the CYP2D6 gene mutations and their consequences for enzyme function in a West African population. *Pharmacogenetics*. 9: 715-723.
 31. Guengerich P. (1993). Cytochrome P450 Enzymes. *American Scientist*. 81(5): 440-447.
 32. Hebebrand J. (1992). A critical appraisal of X-linked bipolar illness: evidence for the assumed mode of inheritance is lacking. *Br J Psychiatry*. 160: 7-11.
 33. Herrington R, Lader M. (1981). Chap. 1, Antidepressant drugs. Chap. 2, Lithium. In, Handbook of Biological Psychiatry. Pt. V, *Drug Treatment in Psychiatry-Psychotropic Drugs*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 1-72.
 34. Hollister L. (1978). Tricyclic antidepressants. *N Engl J Med*. 299: 1106-1109, 1168-1172.
 35. Hollister L, Davis K. (1980). Subtypes of depression based on excretion of MHPG and response to nortriptyline. *Arch Gen Psychiatry*. 37: 1107-1110.
 36. Ingelman-Sundberg M. (1999). Duplication, multiduplication and amplification of genes encoding drug-metabolizing enzymes: evolutionary, toxicological, and clinical pharmacological aspects. *Drug Metab Rev*. 31: 449-459.
 37. Isaza M, Henao B, López G. (2000). Mutaciones del gen CYP2D6 en población Colombiana. *Revista Médica de Ríadla*. 5(1).
 38. James F, Andrews M, Charles B, Nemeroff C. (1994). Contemporary Management of Depression. *The American Journal of Medicine*. 97(suppl 6a): 24-28.
 39. Janowsky D, Simons E. (1972). A cholinergic-adrenergic hypothesis of mania and depression. *Lancet*. 2: 573-577.
 40. Johansson I, Oscarsson M, Yue K, Bertilsson L, Sjöqvist F, Ingelman-Sundberg M. (1994). Genetic analysis of the Chinese cytochrome P450 locus: characterization of variant CYP2D6 genes present in subjects with diminished capacity for debrisoquine hydroxylation. *Mol Pharmacol*. 46: 452-459.
 41. Kalow W. (1962). Pharmacogenetics – Heredity and the responses to drugs. Philadelphia. W.B. Saunders Co.
 42. Kalow W, Grant D. *Pharmacogenetics*. En: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D. (2001). The Metabolic Bases of Inherited Disease. 8th ed. Mc Graw-Hill, Inc. pp. 225-255.
 43. Kimura S, Umeno M, Skaoda R, Gelboin H, Meyer U, González F. (1989). The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene and a pseudogene. *Am J Hum Genet*. 45: 889-904.
-

-
44. Kraus R, Díaz P, McEachran A. (1996). Managing rapid metabolizers of antidepressants. *Depress Anxiety*. 4: 320.
 45. Kuhn R. (1958). The treatment of depressive states with G22355 (imipramine hydrochloride). *Am J Psychiatry*. 115: 459-464.
 46. Lehninger, Nelson D, Cox M. (2001). Principios de bioquímica. Ediciones OMEGA, S.A. 3ª Edición.
 47. López-Ibor J. (1992). Serotonin and psychiatric disorders. *Int Clin Psychopharmacol*. 7/2.
 48. Lovlie R, Daly K, Matre G, Molven A, Steen V. (2001). Polymorphism in CYP2D6 duplication-negative individuals with the ultrarapid metabolizer phenotype: a role for the CYP2D6*35 allele in ultrarapid metabolism. *Pharmacogenetics*. 11: 45-55.
 49. Marez D, Legrand M, Sabbah N, Lo G, Spire C, Lafitte J. (1997). Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics*. 7: 193-202.
 50. Masimirembwa C, Persson I, Bertilsson L, Hasler J, Ingelman-Sundberg M. (1996a). A novel mutant variant of the CYP2D6 gene (CYP2D6*17) common in a black African population; association with diminished debrisoquine hydroxylase activity. *BR J Clin Pharmacol*. 42: 713-719.
 51. Masimirembwa C, Hasler J, Bertilsson L, Johansson I, Ekberg O, Ingelman-Sundberg M. (1996b). Phenotype and genotype analysis of debrisoquine hydroxylase (CYP2D6) in black Zimbabwean population. Reduced enzyme activity and evaluation of metabolic correlation of CYP2D6 probe drugs. *Eur J Clin Pharmacol*. 5: 117-122.
 52. Masimirembwa C, Johansson I, Hasler U, Ingelman-Sundberg M. (1993). Genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2D6 in Zimbabwean population. *Pharmacogenetics*. 3: 275-280.
 53. McGuffin P, Katz R, Watkins S. (1996). A hospital-based twin register of the heritability of DSM-IV unipolar depression. *Arch Gen Psychiatry*. 53: 129-136.
 54. McLellan R, Oscarsson M, Seidegard J, Evans D, Ingelman-Sundberg M. (1997). Frequent occurrence of CYP2D6 gene duplication in Saudi Arabians. *Pharmacogenetics*. 7: 187-191.
 55. Medina R, Jung C, López L, Alonso V. (2002). Estudio del fenotipo metabolizador del CYP2D6 en población mexicana, utilizando dextrometorfán. Presentación oral en INNN. Mayo.
 56. Mendoza R, Wan Y, Poland R, Smith M, Zheng Y, Berman N, Lin K. (2001). CYP2D6 polymorphism in a Mexican American population. *Clin Pharmacol Ther*. 70: 552-560.
 57. Meyer U. (1994). Pharmacogenetics: the slow, the rapid and the ultra rapid. *Proc Natl Acad Sci USA*. 91: 1983-1984.
 58. Michalon M. (1993). Trastorno afectivo estacional. *Psychiatry Today*. 3/1.
 59. Motulsky A (1957). Drug reactions, enzymes and biochemical genetics. *JAMA*. 165: 835-837.
 60. Müller R, Young I. (2000). Emery's Elements of Medical Genetics. 10th ed. Churchill Livingstone, Edinburgh. pp. 169-175.
 61. Mullis K. (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am*. 262: 56-65.
 62. Munker T. (2000). Farmacogenómica: Fármacos personalizados y medicina personalizada <http://www.jrc.es/pages/iptsreport/vol138/spanish/FUT3S386.htm>.
 63. Nebert D, Nelson D, Coon M. (1991). The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, and recommended nomenclature. *DNA Cell Biol*. 10: 1-14.
 64. Nebert D, McKinnon R, Puga A. (1996). Human drug metabolizing enzyme polymorphisms: effects on risk of toxicity and cancer. *DNA Cell Biol*. 15: 273-278.
 65. Nebert D. (1997a). Pharmacogenetics; 65 candles on the cake. *Pharmacogenetics*. 7: 435-440.
 66. Nebert D. (1997b). Polymorphism in drug-metabolizing enzymes: what is their clinical significance and why do they exist?. *Am J Hum Genet*. 60: 265-271.
 67. Nebert D. (1999). Pharmacogenetics and Pharmacogenomics: why is this relevant to clinical geneticist?. *Clin Genet*. 56: 258-274.
-

-
68. Nebert D, Dieter M. (2000). The evolution of drug metabolism. *Pharmacology*. 61: 124-135.
 69. Nemeroff C, DeVane C, Pollock B. (1996). Newer antidepressants and the cytochrome P450 system. *Am J Psychiatry*. 153: 311.
 70. Nurnberger J, Gershon E. (1992). Genetics of affective disorders. In Paykel, E.S. ed. *Handbook of Affective Disorders*. 2nd ed. Washington.
 71. Pickar D, Rubinow K. (2001). Pharmacogenomics of psychiatric disorders. *Trends Pharmacol Sci*. 22: 75-83.
 72. Prange A, Wilson I. (1974). L-Tryptophan in mania: contribution to a permissive hypothesis of affective disorders. *Arch Gen Psychiatry*. 30: 56-62.
 73. Preskorn S, Fast G. (1991). Therapeutic drug monitoring for antidepressants: efficacy, safety, and cost effectiveness. *J Clin Psychiatry*. 52(suppl. 6): 23-33.
 74. QIAamp DNA Blood Midi/Maxi Kit Handbook 09/2001.
 75. Richelson E. (2001). Pharmacology of Antidepressants. *Mayo Clin Proc*. 76: 511-527.
 76. Riesenman C. (1995). Antidepressant Drug Interactions and the Cytochrome P450 System: A Critical Appraisal. *Pharmacotherapy*. 15(6 Pt 2): 84S-99S.
 77. Sachse C, Brockmöller J, Hildebrand M, Müller K, Roots I. (1998). Correctness of prediction of the CYP2D6 phenotype confirmed by genotyping 47 intermediate and poor metabolizers of debrisoquine. *Pharmacogenetics*. 8: 181-185.
 78. Sambrook J, Maniatis T, Fritsch E. (1989). *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. 4th ed. Editorial Cold Spring Harbor Laboratory; New York. pp. 270-307.
 79. Samson J, Mirin S, Griffin M. (1994). Urinary MHPG and symptoms in patients with unipolar depression. *Psychiatry Res*. 51: 157-165.
 80. Schatzberg A, Orsulak P, Rosenbaum A. (1982). Towards a biochemical classification of depressive disorders, V: biochemical heterogeneity of unipolar depression. *Am J Psychiatry*. 139: 471-475.
 81. Schur B, Bjerke J, Nuwayhid N, Wong S. (2001). Genotyping of cytochrome P450 2D6*3 and *4 mutations using conventional PCR. *Clinica Chimica Acta*. 308: 25-31.
 82. Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D. (2001). *The Metabolic Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed. Mc Graw-Hill, Inc. pp. 225-255.
 83. Sharpley A, Cowen P. (1995). Effect of pharmacologic treatments on the sleep of depressed patients. *Biol Psychiatry*. 37: 85-98.
 84. Shoaf S. (1991). Interaction of ethanol and smoking on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of psychotropic medications. *Psychopharmacol Bull*. 27: 577.
 85. Slaughter R, Edwards D. (1995). Recent advances: the cytochrome P450 enzyme. *Ann Pharmacother*. 29: 619-24.
 86. Stahl S. (1998). Is serotonin receptor down regulation linked to the mechanism of action of antidepressant drugs? *Psychopharmacol Bull*. 30: 39-43. <http://psicofarmacologia.bizland.com>
 87. Steiner W, Müller B, Leucht S, Kissling W. (2001). Pharmacogenetics: a new diagnostic tool in the management of antidepressive drug therapy. *Clinica Chimica Acta*. 308: 33-41.
 88. Steiner E, Iselius L, Alvan G, Lindsten J, Sjöqvist F. (1985). A family study of genetic and environmental factors determining polymorphic hydroxylation of debrisoquine. *Clin Pharmacol Ther*. 38: 394-401.
 89. Traskman L, Asberg M, Bertilsson L. (1981). Monoamine metabolites in CSF and suicidal behavior. *Arch Gen Psychiatry*. 38: 631-636.
 90. Vesell E. (2000). Advances in Pharmacogenetics and Pharmacogenomics. *J Clin Pharmacol*. 40: 930-938.
 91. Vogel F. (1959). Moderne probleme der humangenetik. *Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde*. 12: 52-125.
 92. Wallace R. (1999). Pharmacogenomics: the next logical step. *Drug Discovery Today*. 4: 105-107.
-

93. Wang S, Huang J, Lai M, Liu B, Lai M. (1993). Molecular basis of genetic variation in debrisoquine hydroxylation in Chinese subjects: polymorphism in RFLP and DNA sequence of CYP2D6. *Clin Pharmacol Ther.* 53: 410-418
94. Weber W. (1997). Pharmacogenetics. Oxford University Press. New York.
95. Weissman M, Fendrich M, Warner V. (1992). Incidence of psychiatric disorder in offspring at high and low risk for depression. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 31: 640-648.
96. Weissman M, Warner V, Wickramaratne P. (1998). Early-onset major depression in parents and their children. *J Affect Dis.* 15: 269-277.
97. Wenneerholm A, Johansson I, Massele A, Jande M, Alm C, Aden Y, Dahl M, Ingelman-Sundberg M, Bertilsson L, Gustafsson L. (1999). Decreased capacity for debrisoquine metabolism among black Tanzanians: analyses of the CYP2D6 genotype and phenotype. *Pharmacogenetics.* 9: 707-714.
98. Wrighton S, Stevens J. (1992). The human hepatic cytochromes P450 involved in drug metabolism. *Crit Rev Toxicol.* 22: 1-21.