



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA

TESIS DE MAESTRIA

**Concentración de Citocinas Séricas en Pacientes con Trastorno Bipolar en
Manía, Antes y Después de Respuesta a Tratamiento**

ALUMNO
Luis Fernando Guerrero Herrera

DIRECTOR DE TESIS
M. en C. Amado Nieto Caraveo

ASESOR
D. en C. Antonio Augusto Gordillo Moscoso

San Luis Potosí, S.L.P. Marzo 2022

DIRECTOR DE TESIS	
M. en C. Amado Nieto Caraveo	
ASESORES	
D. en C. Antonio Augusto Gordillo Moscoso	
SINODALES	
Sinodal Interno D. en C. Úrsula Fabiola Medina Moreno	
Sinodal Interno M. en C. Francisco Javier Valadez Castillo	
Sinodal Externo Dra. Laura Elena Pérez Romero Especialista en Psiquiatría	
Sinodal Externo Dr. Alfonso Grageda Foyo Especialista en Psiquiatría Sub-Especialista en Psiquiatría de Enlace	
Dr. Daniel Ernesto Noyola Cherpitel Jefe de Investigación y Posgrado Clínico Facultad de Medicina UASLP	D. en C. Antonio Augusto Gordillo Moscoso Coordinador de la Maestría en Ciencias en Investigación Clínica



Concentración de citocinas séricas en pacientes con trastorno bipolar en manía, antes y después de respuesta a tratamiento by Luis Fernando Guerrero Herrera is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Índice	
Índice.....	3
Abreviaturas.....	5
Glosario.....	5
1.- Antecedentes.	6
1.1 Epidemiología.	6
1.2 Diagnóstico.	7
1.3 Criterios de Diagnóstico.....	7
1.4 Tratamiento.	8
1.5 Carga de la enfermedad.....	9
1.6 Fisiopatología e inmunología en TB.....	10
2. Pregunta de investigación.	16
3. Justificación.....	16
4. Hipótesis.	17
5. Objetivos.....	17
5.1 General.	17
5.2 Específicos.	17
5.3 Secundarios.....	17
6. Metodología.	18
6.1 Diseño.....	18
6.3 Universo del estudio.....	18
6.4 Sujetos participantes.	18
6.4.1 Criterios de Inclusión.....	18
6.4.2 Criterios de no inclusión.....	18
6.4.3 Criterios de eliminación.	18
6.5 Técnica de muestreo.	18
6.7 Instrumentos de diagnóstico.....	21
6.7.1 M.I.N.I. SCID-IV-E.....	21
6.7.2 Escala de Manía de Young.....	21
6.8 Medición de Citocinas.	21
7. Análisis estadístico.....	24
Definición operativa de las variables.....	24
8.- Discusión.....	37

9. Plan de trabajo	45
9.1 Selección y evaluación de casos.....	45
10. Cronograma.....	46
11. Análisis de factibilidad.	47
12. Aspectos éticos.	48
12.1 Procedimiento para obtención de consentimiento informado.....	48
12.2 Mecanismo para detección y reporte de evento adverso.	49
12.3 Conflictos de Interés.....	49
13. Referencias.....	50
Anexo 1 Consentimiento informado.....	56
Anexo 2 Criterios de Diagnóstico.....	61
Anexo 3. Escala de Manía de Young	64
Anexo 4. Manual de instrucción para uso del Kit “Human Inflammatory Cytokines Kit”	67
Anexo 5. Procedimiento y control de calidad para la Evaluación de citocinas en suero / plasma 67	
Anexo 6. Aprobación del comité estatal de ética en investigación	68

Abreviaturas.

Abreviatura	Significado
TB	Trastorno Bipolar
IL	Interleucina
BDNF	Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
CIE	Clasificación Internacional de Enfermedades
OMS	Organización Mundial de la Salud.
sIL-2R	Receptor soluble de IL 2
sTNF-R1	Receptor soluble 1 de TNF
sIL-6R	Receptor soluble de IL 6
Treg	Células T reguladoras
CANMAT	Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments
ISBD	International Society for Bipolar Disorders
SCID-I-E	Entrevista Clínica Estructurada para DSM-5 para Eje I versión español .

Glosario

Respuesta a tratamiento: Disminución del 50% de sintomatología de manía y puntaje menor a 12 en la escala de manía de Young.

Citocinas: Proteínas de peso molecular bajo que son responsables de respuesta a infecciones, reacciones inmunológicas y lesiones, para ello intervienen en la maduración, diferenciación celular, hematopoyesis, reparación tisular, comunicación intracelular, proliferación y muerte celular. Actúan uniéndose a la superficie celular a través de receptores, y se clasifican según el lugar o etapa de respuesta inmune. Ellas pueden tener impacto sobre los neurotransmisores y neuropéptidos.

Citocinas proinflamatorias: IL-1beta, IL-6, IL-12, IL-18, TNF-a e IFN-g

Citocinas antiinflamatorias: IL-10, IFN-a y el factor beta de Transformación de crecimiento (TGF-b)

1.- Antecedentes.

1.1 Epidemiología.

El trastorno bipolar (TB) es una enfermedad mental crónica asociada con episodios depresivos, maníacos y mixtos, la cual se relaciona fisiopatológicamente con otros problemas en la función cerebral^{1,2}, que puede explicar la conexión específica entre fenómenos neurobiológicos, síntomas clínicos y comorbilidades, por lo cual una mejor comprensión en la relación entre estos fenómenos llevará a tener mejores tratamientos para las personas que la padecen¹.

El TB tiene una prevalencia cercana al 1% independientemente del género u origen étnico^{1,2}. La determinación precisa de la prevalencia depende de la detección de la enfermedad y de la definición usada para trastorno bipolar. A lo largo del tiempo se han usado diferentes criterios para definir la enfermedad, con el uso de distintos instrumentos diagnósticos en diferentes muestras poblacionales². Así cuando se realizan ajustes más amplios en la presentación y duración de los criterios diagnósticos, la prevalencia del trastorno bipolar se acerca al 6.5% con un nivel de disfunción igual al que se tiene con criterios más exigentes (actuales) que reflejan una prevalencia del 1.3%³. En general se estima que la prevalencia a nivel mundial se encuentra en un rango del 0.4% al 1.7%^{1,2,4}.

En México, de acuerdo con la encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica (ENEP), los trastornos mentales con mayor frecuencia son los trastornos de ansiedad, los trastornos depresivos, el trastorno por déficit de atención, esquizofrenia, trastorno bipolar y los relacionados con el uso de sustancias, siendo la prevalencia de la enfermedad entre el 0.9 y el 1.8 siendo prácticamente la misma que a nivel mundial⁵. En San Luis Potosí no se cuenta con una estadística respecto a prevalencia e incidencia, sin embargo, en la Clínica Psiquiátrica "Dr. Everardo Neumann Peña" se tienen registrados 830 pacientes que acuden regularmente a tratamiento⁶. En el 2018 se atendieron 1048 consultas en el servicio de consulta externa con este diagnóstico, hubo 148 ingresos con diagnóstico de trastorno bipolar y 96 internamientos en fase de manía.⁶

Desde su conceptualización se ha intentado dotar de parámetros paraclínicos etiopatológicos o fisiopatológicos, a los sistemas de clasificación, sin embargo, no ha sido posible su inclusión por la dificultad de medición, y consistencia de dichos parámetros.² Así las características clínicas de presentación en los sistemas clasificatorios vigentes, como el Manual Diagnóstico y Estadístico de los trastornos mentales (DSM 5)⁷ y el Sistema de Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE 10)⁸, siguen siendo los sistemas donde basamos los criterios diagnósticos para dar seguimiento a la propia enfermedad. En estos criterios se contempla la diferenciación de episodios en maníacos, depresivos e hipomaniacos, que no son debidos por alguna otra condición médica^{7,8}.

1.2 Diagnóstico.

El TB es un trastorno clínicamente heterogéneo con un curso variable que inicia típicamente en la adolescencia tardía o en la adultez temprana, con un pico de presentación que va de los de los 17.24 años con una desviación estándar de ± 3.20 años, a los 32 años ± 11.96 de desviación estándar y una media de presentación de 24 años ± 5.12 años de desviación estándar. Por ello se considera que es raro que se inicie en los extremos de la vida².

De acuerdo con la clasificación tradicional, se ha conceptualizado en función de la presencia predominante de uno o varios episodios de manía con síntomas psicóticos, que alterna con episodios depresivos que también presentan disfuncionalidad marcada². Sin embargo, muchos pacientes inician con cuadros depresivos o de hipomanía que pasan desapercibidos por familiares y médicos durante un promedio aproximado de 8 años, antes de que aparezca un episodio de manía². Por ello, la fase de manía es la entidad clínica del trastorno bipolar más distinguible y detectable, ya que la fase depresiva de la enfermedad es clínicamente indistinguible de un episodio depresivo no bipolar y la fase de hipomanía a menudo no es reconocida por los clínicos como una enfermedad y los criterios para diagnosticarla se encuentran en continuo cambio^{2,4,7}. Por lo tanto el episodio de manía sigue siendo el parámetro clínico más fiable para el diagnóstico de TB⁴.

1.3 Criterios de Diagnóstico.

Según el DSM 5, para realizar el diagnóstico de trastorno bipolar I (trastorno con cuadros depresivos y de manía), es necesario que se cumplan ciertos criterios (ver anexo 2), los cuales se subdividen en criterios para manía y depresión, siendo la presentación del episodio de manía el que da o confirma el diagnóstico ya que se requiere de por lo menos un episodio de manía para poder diagnosticar un trastorno bipolar tipo I^{4,7}. Siendo el TB una enfermedad crónica, los criterios diagnósticos de los diferentes episodios se pueden presentar a lo largo de la vida, lo que a su vez le confiere una alta incapacidad dentro de los trastornos psiquiátricos^{3,7}.

A su vez el diagnóstico de manía se basa en el cumplimiento de criterios diagnósticos (ver anexo 2) los cuales se basan en la descripción de su definición. Así la manía se denomina como a una elevación anormal del estado de ánimo, la cual es persistente a través del tiempo (por lo menos una semana), caracterizado por ánimo expansivo o irritable, con incremento de la actividad o la energía dirigida, durante la mayor parte del día, todos los días o la mayoría de ellos y que por la intensidad de la misma puede requerir hospitalización en un periodo más breve de tiempo^{7,8}. Durante este tiempo el paciente puede presentar un aumento significativo en la autoestima, con sentimiento de grandeza, disminución de la necesidad de dormir, aumento en la velocidad y producción del pensamiento y el lenguaje, fuga de ideas o experiencia, incremento de la distracción, hiperactivación o agitación

psicomotora, conducta hipersexual, impulsividad, errores de juicio que lo exponen a actos con consecuencias dolorosas o imprudentes^{7,8}.

Derivado de lo anterior es evidente que el diagnóstico sigue siendo clínico sin embargo para su medición se pueden utilizar diferentes escalas, siendo la más usada la Escala de Manía de Young por su alta especificidad, sensibilidad, y alta correlación para evaluadores independientes de 0.93^{9,10}. Ésta escala es en sí una entrevista clínica estructurada que evalúa la severidad de los estados maniacos. Otras de las escalas usadas son la escala de Beigel, escala de Petterson y la Brief Psychiatric Rating Scale; sin embargo, la escala de manía de Young ha mantenido mejor rendimiento de prueba teniendo un valor predictivo positivo de 83 y un valor predictivo negativo de 66, los cuales han sido superiores a las otras pruebas⁹.

1.4 Tratamiento.

El adecuado tratamiento del trastorno bipolar es complejo, multi e interdisciplinario, el cual se realizará durante toda la vida del paciente posterior al diagnóstico¹⁰. Al ser una enfermedad crónico-deteriorante se siguen los preceptos del manejo de estas enfermedades que involucran intervenciones para los individuos, familia y entorno. Por lo que el manejo básico incluye diagnóstico – atención de la enfermedad y sus comorbilidades, psicoeducación, psicoterapia y farmacoterapia¹⁰.

Dado que la enfermedad tiene varias fases de presentación (Manía, hipomanía, eutimia y depresión), existen guías de manejo para cada una de ellas^{10,11}. Específicamente en la fase de manía existe una variedad de estrategias farmacológicas que incluyen el uso de litio, valproato, otros antiepilépticos, antipsicóticos típicos y atípicos, y otros agentes como las benzodiazepinas¹⁰. Para el uso de estos fármacos se usan los criterios de medicina basada en evidencia que recopilan las diferentes guías de tratamiento, específicamente la Guía Canadiense CANMAT¹⁰, que es la guía más actualizada a nivel mundial y la guía de tratamiento de México del CENETEC¹¹. Ambas basadas en los principios de seguridad, tolerabilidad y evidencia de eficacia^{10,11}. En la fase de manía se puede usar monoterapia o terapia combinada, sin embargo, no significa que para el tratamiento se deba usar primero la monoterapia, sino que se considere la intervención que el clínico crea más conveniente respecto a la intensidad de los síntomas y la necesidad de disminuir la sintomatología del paciente¹⁰. Sin embargo, las modificaciones al tratamiento se sugieren se realicen evaluando una o dos semanas posteriores^{10,11}.

Aproximadamente el 50% de los pacientes responden con monoterapia a las 3 – 4 semanas usando los medicamentos de primera línea, los cuales son: litio, quetiapina, valproato, asenapina, aripiprazol, paliperidona, risperidona y caripiprazina. Sin embargo, carbamazepina, olanzapina, ziprasidone y haloperidol también cuentan con evidencia de nivel 1 para el tratamiento eficaz de manía, pero han pasado a ser una segunda opción dada su tolerabilidad y seguridad por los efectos secundarios que presentan¹⁰.

Respecto a la terapia combinada se sugiere combinación de antipsicóticos atípicos (quetiapina, aripiprazol, risperidona o asenapina) con litio o valproato. En general la terapia combinada es preferida sobre la monoterapia debido a que los estudios clínicos sugieren un 20% más de pacientes responden con combinación, es decir un 70% de los pacientes responderán en las primeras 4 - 5 semanas. Si no presentan respuesta se considera adicionar o cambiar esquema de tratamiento o el uso de Terapia Eléctrica Convulsiva¹⁰.

1.5 Carga de la enfermedad.

El TB está en el lugar número 17 de las enfermedades con mayor carga de la enfermedad¹³. Según el reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS), los costos directos e indirectos asociados al TB son muy altos, debido a la prevalencia, el impacto sobre los individuos, el impacto en la funcionalidad, cuidadores y las implicaciones económicas para el gobierno y la sociedad¹³⁻¹⁶. Para la OMS el TB reportaba más pérdidas económicas que cualquier forma de cáncer, enfermedad de Alzheimer y epilepsia¹³ y específicamente las de fases de manía son mayormente asociadas con hospitalización, lo que hace al trastorno bipolar en fase de manía el más costoso que las otras formas de trastorno bipolar¹⁷.

En el Reino Unido el costo estimado del TB fue de 342 millones de libras en el periodo de un año¹⁴. En México no existe un estimado del costo directo del TB, sin embargo, en la Clínica Psiquiátrica "Dr. Everardo Neumann Peña", el costo más bajo por día de estancia, sin medicamentos, asciende a \$1,700 y un paciente permanece internado de 30 a 45 días en promedio, y el costo del tratamiento estándar oscila entre los \$ 5,000 y \$ 6,000 pesos durante el internamiento y \$2000 a \$3000 pesos al mes posterior al egreso, costo que es cubierto parcialmente por la cobertura nacional de salud⁶.

Con los datos mencionados anteriormente, se considera que el TB es una de las condiciones médicas más incapacitantes de no ser tratada adecuadamente y oportunamente, y conocemos que si el tratamiento es adecuado y oportuno la mejoría en la calidad de vida y disminución del deterioro es considerable¹⁵⁻¹⁸.

Además de la alteración de la conducta y los costos antes mencionados, el impacto de la enfermedad reside en el deterioro neurológico secundario a neurodegeneración^{19,21}, su alta comorbilidad con enfermedades cardiológicas, cerebro-vasculares, metabólicas y endócrinas¹⁷⁻¹⁹ y su disminución en la esperanza de vida de 8 a 14 años^{17-19,23}. Se considera que múltiples causas contribuyen a esta mortalidad, entre ellas el suicidio^{13,17,23,24}, especialmente en los primeros 5 años posteriores al diagnóstico²⁴, accidentes, homicidios y enfermedades crónico-degenerativas²⁴⁻²⁷, siendo éstas las que más contribuyen, en un 80% a la mortalidad en los pacientes con TB^{19,24-27}, presentando un riesgo general de 1.5 veces mayor que en la población general, un riesgo del doble para muerte por enfermedades cardio-vasculares y metabólicas, y tres veces más de riesgo para enfermedades respiratorias como asma y EPOC^{19,23-26}. Se desconoce la causa directa de estas comorbilidades, pero se consideran dos aspectos en esta relación, los estilos de vida secundarios a la enfermedad mental y/o que se comparte una fisiopatología común para

las enfermedades crónica degenerativas^{26,28} y otras enfermedades con componentes autoinmunes²⁹.

En apoyo de la teoría fisiopatológica común con las enfermedades crónico-degenerativas se ha descrito una disminución de todas las causas de mortalidad en pacientes con TB tratados con antipsicóticos en comparación con pacientes no tratados^{21,22,26}, en donde no se hizo intervención directa para cambiar los estilos de vida^{24,26}. Por ello los conocimientos actuales en la fisiopatología de la enfermedad, sugieren que se trata de una enfermedad más compleja, con implicación sistémica, que requiere mayor investigación en los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad dentro de los cuales se han contemplado componentes genéticos, alteraciones del neurodesarrollo, procesos neurodegenerativos, entre otros, donde se involucran alteraciones inmunológicas^{28,29}.

1.6 Fisiopatología e inmunología en TB.

En la actualidad se investiga el posible rol del sistema inmune en la fisiopatología de los trastornos mentales mayores²⁸⁻³². Se han propuesto hipótesis biológicas extendidas para explicar el papel de varios biomarcadores para los trastornos del estado de ánimo y para probar la probable causalidad de los procesos moleculares responsables de la alteración del almacenamiento, la recuperación y el procesamiento de información en el cerebro y la alteración de la función de circuitos neuronales específicos durante los episodios del TB. Estas hipótesis se han puesto en el contexto de cambios en la genética, estructura, función, fisiología y neuroquímica del cerebro en el TB, principalmente cambios en neuroplasticidad, neuroinflamación, vías de señalización intracelular, bioenergética, estrés oxidativo y nitrosativo, apoptosis y proteólisis, señalización de calcio. y transporte de membrana o vesicular⁵⁷ (Figura1). Se han reportado niveles anormales de citocinas pro-inflamatorias en suero, plasma y líquido cefalorraquídeo en pacientes con trastornos del afecto incluyendo al trastorno bipolar y esquizofrenia^{28,30}, pero al parecer, se piensa que solo en un tercio total de la población con enfermedades mentales el rol fisiopatológico es netamente relevante para la enfermedad⁵⁵. Se tiene como hipótesis que el estado pro-inflamatorio de las citocinas en las redes neuronales induce síntomas psicopatológicos involucrados en la patogénesis y fisiopatología de los trastornos mentales mayores^{28, 30-33,58}.

Diversos estudios han ligado los procesos inflamatorios con los cambios en neuroplasticidad, muerte neuronal, acción y funcionalidad de los neurotransmisores, hormonas y neurotrofinas²⁹⁻³⁴. Dichos procesos posiblemente se encuentren involucrados en las diversas fases de la cascada de inflamación, donde intervienen múltiples moléculas y biomarcadores inflamatorios como son los reactantes de fase aguda, citocinas y quimiocinas, inmunoglobulinas, proteínas de complemento, factor B, Proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsCRP)^{28,29}.

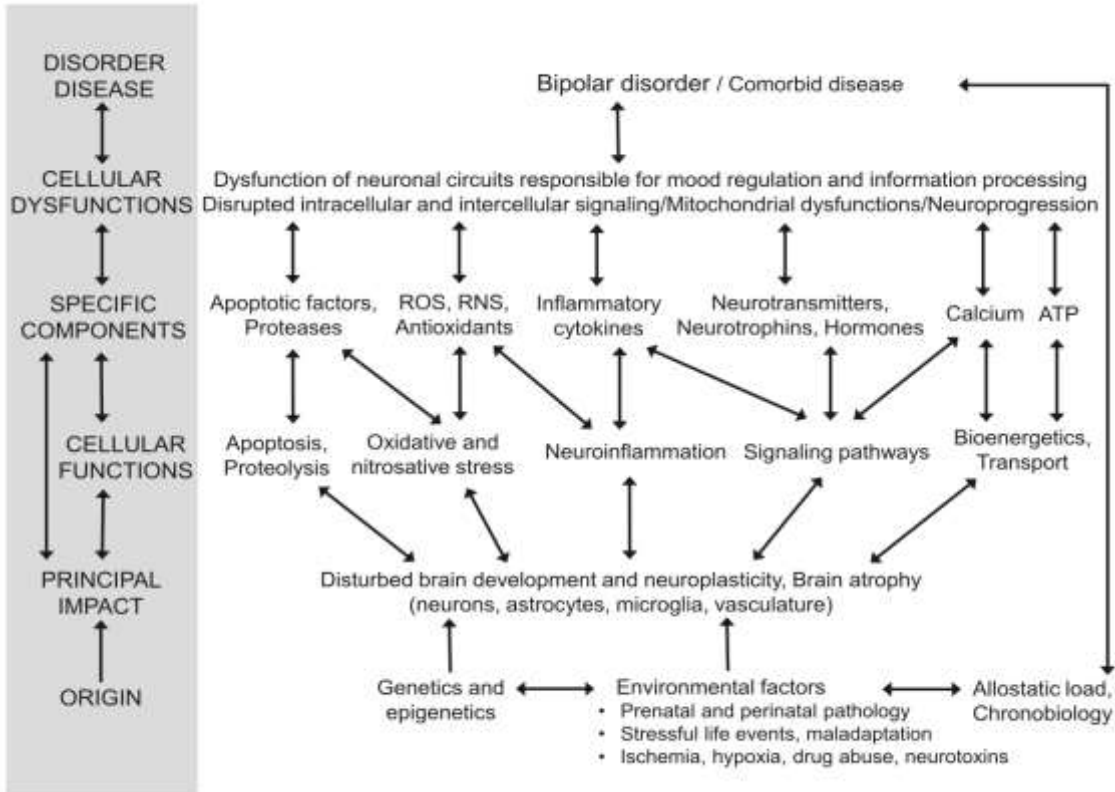


Figura1.

Estos hallazgos han sugerido que el Sistema inflamatorio y neurológico se encuentran estrechamente relacionados en la neuropatogenia de la enfermedad bipolar²⁸⁻³¹. A partir de estos hallazgos se ha sumado evidencia reciente de que en pacientes con trastorno bipolar en las diferentes fases de la enfermedad, se encuentran circulando sistémicamente citocinas pro-inflamatorias²⁸, con la funcionalidad de activar neutrófilos, proliferación de células B, síntesis de proteínas de fase aguda y el incremento de la permeabilidad vascular²⁸⁻³¹ como un mecanismo adaptativo ante la enfermedad o como parte de la neurodegeneración de la enfermedad pero que dan cuenta de la presentación clínica observada como deterioro cognitivo y resistencia al tratamiento que pudiera estar mediado por la respuesta inmunológica^{35-38, 55}.

Dicho lo anterior se considera que dentro de los hallazgos más consistentes biológicos en TB tienen que ver con los procesos inflamatorios, específicamente la disfunción del complejo mitocondrial I y la inflamación crónica³⁹. Las mitocondrias son potentes activadores del sistema inmune, y esto puede ocurrir en parte a través del inflamasoma NLRP3, que se ensambla y se activa después de la liberación mitocondrial de especies reactivas al Oxígeno³⁹. Dado que la disfunción del complejo I en el TB podría conducir a un aumento de la producción de especies Reactivas a Oxígeno mitocondriales, la activación del sistema inflamatorio mediada por el inflamasoma NLRP3 puede ser la base de una mayor liberación de citocinas en el SNC y en la periferia incluyendo IL-6, TNF-a, IFN-g, y IL-1beta de los pacientes con TB (Figura 2)^{28-30, 38, 39, 60}.

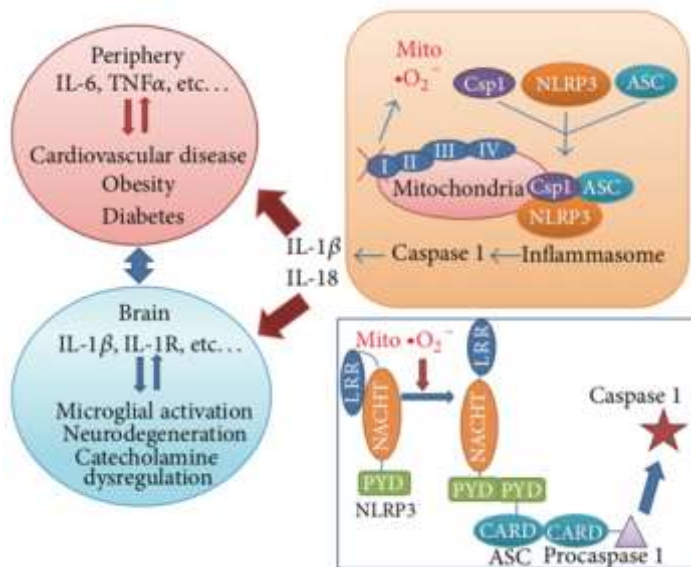


Figura 2. Activación inflamatoria por disfunción del complejo mitocondrial I en pacientes con TB.

Por otra parte, teniendo en cuenta que las citocinas pro-inflamatorias se producen por activación de las células endoteliales, células del sistema mononuclear fagocítico y células T, la teoría del macrófago/células T. Esta teoría propone que la activación crónica de macrófagos y células T producen citocinas y compuestos inflamatorios que impactan en el desarrollo cerebral y predisponen al cerebro a la interacción en sujetos genéticamente predispuestos con situaciones ambientales que precipitan los síntomas del trastorno bipolar³⁰.

En los pacientes con trastorno bipolar se ha observado una activación en la expresión genética de los monocitos los cuales son más extendidos que los involucrados en los genes de los monocitos en la esquizofrenia^{31,32}. Sin embargo, esta sobre expresión de la activación genética de monocitos es particularmente mayor en los casos de pacientes con episodios activos de manía, depresión o psicosis afectiva^{31,34,37}. Por otro lado, la enfermedad esquizofrénica parecería estar más relacionada con una sobreactuación inmune Th2, mientras que los pacientes bipolares mostrarían con mayor frecuencia una respuesta inmune relacionada con los monocitos. Se puede especular que los diferentes síntomas de la esquizofrenia frente al TB serían el resultado de un perfil inmunológico distinto con una predisposición genética compartida. Este modelo explica la evolución diferente de los pacientes psicóticos del primer episodio. En algunos de estos pacientes, una respuesta inmunitaria Th2 prevalente se asociará con síntomas negativos / cognitivos y un diagnóstico de esquizofrenia, mientras que una respuesta relacionada con monocitos con síntomas afectivos se asociará con un diagnóstico de TB. Esta hipótesis concuerda con la opinión actual de que existen fenotipos intermedios entre la esquizofrenia y el TB y no existe una distinción clara entre los dos trastornos en términos de marcadores biológicos (Fig. 3)⁶¹. Por lo que se observan niveles anormales de citocinas pro-inflamatorias, quimosinas y adipocinas en pacientes con trastornos afectivos especialmente en manía^{31,32,34}. En

particular, la disregulación de citocinas podría ser responsable de los aspectos neurodegenerativos observados tanto en la esquizofrenia como en el TB, particularmente en pacientes con enfermedad de larga duración. Algunos estudios muestran que secreción de citocinas inflamatorias activan mecanismos neuroinmunes anormales involucrando circuitos neuronales específicos relacionados con la modulación emocional^{31,37-39,61}.

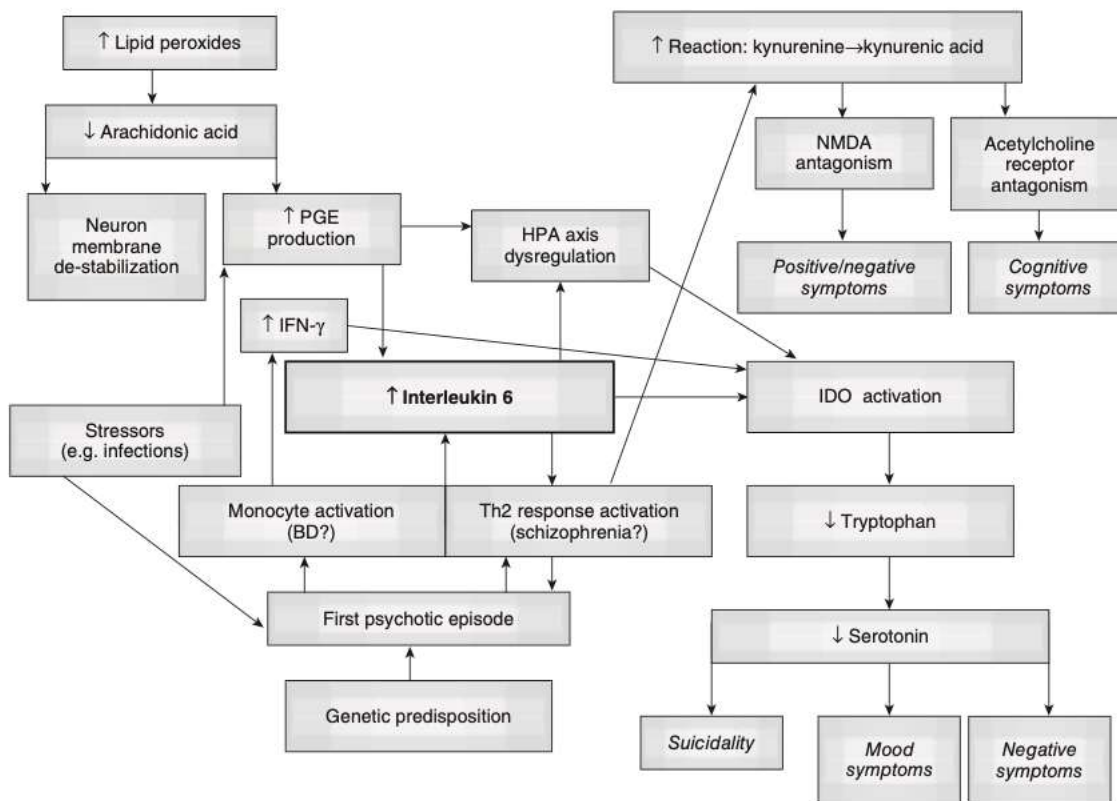


Figura 3.- Interleucina-6: ¿Un marcador biológico común de esquizofrenia y trastorno bipolar? BD, trastorno bipolar; HPA, eje hipotalámico-hipofisario; IDO, indolamina-pirrol 2,3-dioxigenasa; IFN, interferón; NMDA, receptor de N-metil-D-aspartato; PGE, prostaglandina E.

Esto ha hecho investigar sobre el papel de variables pro-inflamatorias e inflamatorias, de activación de la microglía y el sistema fagocítico en estos trastornos mentales, teniendo resultados variables, que indican alteraciones en IL-1, IL2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-23 y TNF-alfa, TGF-β1, interferón-gamma y los receptores de estas citocinas, en esquizofrenia, trastorno bipolar y depresión severa^{28,29,39-46}. Lo anterior se ha observado en los primeros episodios de psicosis en los pacientes bipolares y en estudios postmortem de los mismos donde es consistente la observación de activación de microglía y niveles elevados de citocinas⁴⁷.

Aunado a esto, algunas alteraciones inmunológicas detectables en sangre periférica, sugieren que las alteraciones son tanto inflamatorias como antiinflamatorias⁴⁷, probablemente porque se trate de moléculas que intervienen en la adaptación a la enfermedad o que son dependientes entre ellas o dependientes de la fase en la que se encuentre el paciente, eso nos explica porque se encuentran niveles aumentados de TNF-

alfa, así como de su receptor en manía y en depresión, pero permanecen inalteradas en eutimia, en cambio el incremento de IL-6 se observa en eutimia y manía⁴⁷.

En un meta análisis del 2013 comparó los niveles de diversas citocinas en pacientes con TB en sus diversas fases y controles sanos, el cual incluyó 18 estudios, con un total de 761 pacientes y 919 controles, mostró que existían altas concentraciones de IL-2, sIL-2R, TNF-alfa, sTNF-R1 y sIL-6R⁴⁴, así mismo Modabbernia et al (2013) en un meta análisis de 30 estudios, con 1351 pacientes bipolares confirmó que los niveles de sIL-2R, TNF-alfa, sTNF-R1 y sIL-6R fueron significativamente más elevados que en los sujetos controles, independientemente de la fase⁴⁵.

Con fundamento, en este tipo de hallazgos, diversos estudios han usado biomarcadores inmunológicos como parte del estudio de la fisiopatología del Trastorno Bipolar asociando biomarcadores inflamatorios (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17-alfa, interferón-gamma), neurotrofinas (BDNF) y biomarcadores del estrés oxidativo (sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico, Protein Carbonyl content (PCC), Proteína C Reactiva de alta sensibilidad (hsCRP) que se han propuesto como biomarcadores de estatificación y validación^{35,40-48}.

En la traducción clínica estas sustancias pro-inflamatorias inducen la activación de células inmunes y tienen un impacto sobre la neurodegeneración de la corteza prefrontal (alteraciones cognitivas observadas) y en hipocampo (alteraciones en el control o valor emocional)⁴⁸. Con lo observado en estos hallazgos, también se ha tratado de valorar el impacto clínico del tratamiento y el efecto que estos pudieran tener sobre las variables inmunológicas. En estudios en modelos animales se ha reportado que los antipsicóticos atípicos tales como clozapina, olanzapina y risperidona, muestran una actividad anti-inflamatoria y reducción de las concentraciones de citocinas pro-inflamatorias en suero de ratas, principalmente en IL-6, IL-10 y TNF-alfa^{40,59}.

Aunque se conocen estas alteraciones el rol que tienen en el proceso fisiopatológico aun no es muy claro, y cada vez se amplía más el número de moléculas del sistema inmune que intervienen en la enfermedad, así se han agregado al estudio otras citocinas como las quimiocinas que inducen quimiotaxis en los sitios de inflamación o lesión y son clasificadas en subfamilias CXC, CC, CX3C y XC, todas las quimiocinas van a interactuar con receptores de proteína G transmembrana y a su vez estas pudieran tener actividades neuromoduladoras, de neurotransmisión y de regulación de neurogénesis⁴⁹.

A pesar de toda la información existente, la asociación esencial no está del todo clara, la evidencia acumulada sugiere que, en el TB, la respuesta neuroinmune esta relacionada con la neurotransmisión, el sistema neuroendocrino, factores neurotróficos y el estrés oxidativo⁴⁹.

Aunque ya se han usado marcadores inmunológicos como parte del estudio de la fisiopatología del Trastorno Bipolar, en los estudios específicos en manía los marcadores más consistentes se han propuesto el receptor soluble de TNF-alfa, IL-2, IL-6 el receptor

soluble de IL-2³⁹⁻⁴⁵, como marcador de respuesta antipsicótica se propone a la IL-23 como candidato de valoración posterior al tratamiento⁴², sin embargo, esto no ha sido muy estudiada y no es consistente ya que a la fecha como posibles factores pronósticos de evolución de la enfermedad y de respuesta a tratamiento son la IL-6 y el TNF-alfa⁴⁹⁻⁵¹, así mismo en el 2015, Vesile y cols. proponen también TNF-alfa, INF-gama, IL-6 y PCR ya que en su estudio se observó que estas fueron mas altas antes de tratamiento y disminuyeron posterior al mismo⁵².

Recientemente, se ha considerado la importancia de realizar estudios que contribuyan a la construcción de modelos fisiopatológicos y que involucren biomarcadores de estado, pronostico y seguimiento, ya que las limitaciones de los sistemas diagnósticos actuales como el DSM y de la CIE, se encuentran en que están basadas en taxonomías clínicas que no incluyen características que delimiten mayor capacidad de pronostico y diferencias terapéuticas entre pacientes que reciben el mismo diagnóstico¹⁷.

Por ello, recientes investigadores han sugerido estudiar la relación longitudinal entre los diferentes biomarcadores, la funcionalidad, presentación clínica, variables neuropsicológicas¹³ y respuesta a tratamiento^{48 y 53}, ya que, aunque se tiene documentado el desbalance periférico inmunológico, se requiere un seguimiento sobre los cambios desde el inicio de la enfermedad o anteriores al diagnóstico y posteriores al tratamiento. En el 2015, Hayes y cols. conducen una cohorte al nacimiento con resultados parciales que están comparando el comportamiento de las interleucinas y la aparición de síntomas maníacos e hipomaniacos en adolescentes donde se ha observado incremento de IL-6 aparentemente al inicio de estas presentaciones clínicas.

Una propuesta para resolver este problema ha sido el desarrollo de biomarcadores⁵³ que permitirían definir poblaciones genética y fenotípicamente más homogéneas, como estrategia para disminuir estas limitaciones la inclusión de medidas de las alteraciones neurobiológicas asociadas como lo son las moléculas pro-inflamatorias, neurotrópicas y moléculas de estrés oxidativo^{21,28,29,48,53}, para diagnóstico, tratamiento y pronóstico. Un ejemplo de ello es el estudio que realizo CIVIL-ARSLAN et cols. en el 2018, tratando de demostrar la relación entre los niveles de IL-18 e IL-6 con las funciones cognitivas, lo cual arrojó una brecha particularmente en la IL-18 como factor protector en el periodo de eutimia, al reflejarse positivo en esta etapa⁵⁶. Así mismo, anteriormente Igue R. et cols en el 2011 demostró que el tratamiento con quetiapina se asoció con una mejora paralela de los síntomas positivos y una normalización de las concentraciones séricas del receptor de IL-2^{61, 62}.

2. Pregunta de investigación.

¿Existirá diferencia en la concentración de citocinas séricas (IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL- 10, IL-12, IL-23, TNF-alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF-alfa) en pacientes con trastorno bipolar en manía, antes y después de la respuesta a tratamiento?

3. Justificación.

El trastorno bipolar se ha convertido en un problema de salud pública debido a su elevada carga de enfermedad, comorbilidad asociada, aumento de mortalidad cardiovascular, así como los costos relacionados. Son pacientes que utilizan más servicios médicos, que se hospitalizan con frecuencia, utilizan más medicamentos y viven 10 años menos y con menor calidad de vida.

Una de las hipótesis para explicar la elevada morbilidad y mortalidad de estos pacientes, es la existencia de una disfunción inmunológica asociada que los pondría en riesgo de una mayor comorbilidad metabólica y cardiovascular ya que durante la última década se ha investigado, a través de estudios transversales, los niveles de citocinas en las diferentes fases del TB con lo que se ha observado incremento en citocinas pro-inflamatorias, sin embargo, se han realizado pocos estudios que relacionen si el tratamiento y control de los síntomas de la enfermedad, podría corregir algunas de las variables inmunológicas que se han observado alteradas y con ello modificar dicha condición. En este sentido con el uso de algunos antipsicóticos y litio se ha observado modificación de niveles de citocinas pro-inflamatorias en modelos animales, pero en humanos se han conducido pocos estudios que hayan medido las concentraciones de las citocinas en TB posterior a tratamiento, encontrando disminución en IL-23, IL-6 y TNF.

Nuestro estudio propone investigar el comportamiento de IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL- 10, IL-12, IL-23, TNF-alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF-alfa ante la respuesta al tratamiento, lo que nos permitiría aportar información sobre la fisiopatología del TB en fase de manía y si las alteraciones de las citocinas son un componente de la enfermedad que no se modifica o si pueden ser modificados con el tratamiento lo cual tendría implicaciones relevantes en la obtención de un biomarcador de respuesta a tratamiento y esto tener implicaciones futuras en pronóstico de la propia enfermedad, de respuesta y para las comorbilidades que se presentan.

Estos resultados podrían contribuir a crear hipótesis sobre el comportamiento del proceso inflamatorio del TB, específicamente durante el tratamiento de una de las fases de la enfermedad en donde mayor riesgo representa. Además, podría contribuir a la modificación del concepto del trastorno bipolar como una enfermedad con localización específica en el cerebro sino como una enfermedad crónico degenerativa con implicaciones sistémicas y que su tratamiento podría tener impacto en mejorar dichas implicaciones.

4. Hipótesis.

Existe diferencia significativa (20%) en la concentración de por lo menos 3 citocinas séricas (IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-23, TNF-alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF-alfa) en pacientes con trastorno bipolar en manía, antes y después de la respuesta a tratamiento.

5. Objetivos.

5.1 General.

Comparar la concentración de citocinas séricas (IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-10, IL-23, TNF-alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF-alfa) en pacientes con trastorno bipolar en manía antes y después de la respuesta a tratamiento.

5.2 Específicos.

- 1.- Determinar los niveles de IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-23, TN- alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF-alfa en pacientes con trastorno bipolar en manía al inicio de tratamiento.
- 2.- Determinar los niveles de IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-23, TNF-alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF -alfa, en pacientes con trastorno bipolar en manía al presentar respuesta a tratamiento con la escala de manía de Young.
- 3.- Comparar los niveles de IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-23, TNF-alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF -alfa, obtenidos al inicio del tratamiento y al presentar respuesta.

5.3 Secundarios.

- 1.- Determinar si el cambio en las concentraciones de IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-23, TNF-alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF-alfa, correlacionan con respuesta al tratamiento según la escala de manía de Young.

6. Metodología.

6.1 Diseño.

Estudio cohorte prospectivo.

6.2 Lugar de realización:

Clínica Psiquiátrica “Dr. Everardo Neumann Peña”.

6.3 Universo del estudio.

Todos los Pacientes mayores de 18 años con trastorno bipolar en fase de manía que acudan a la clínica psiquiátrica.

6.4 Sujetos participantes.

6.4.1 Criterios de Inclusión.

- 1.- Pacientes con trastorno bipolar en fase de manía según los criterios del DSM 5 (Ver anexo 2).
- 2.- Edad entre 18 y 55 años.
- 3.- Que acudan a la Clínica psiquiátrica Dr. Everardo Neumann Peña y requieran internamiento.
- 5.- Que el responsable legal firme consentimiento informado.

6.4.2 Criterios de no inclusión.

- 1.- Cualquier enfermedad crónica inflamatoria (Reumatológica, Oncológica o endocrinológica) diagnosticada previamente o durante su estancia en el hospital.
- 2.- Diagnóstico previo de diabetes mellitus.
- 3.- Diagnóstico de inmunodeficiencia.
- 4.- Diagnóstico de otra enfermedad neurológica o psiquiátrica comorbida.
- 5.- Pacientes que presenten un reingreso y ya hayan sido incluidos en el estudio.
- 6.- Pacientes con Embarazo o lactando.

6.4.3 Criterios de eliminación.

1. Incapacidad de procesar la muestra por cualquier causa.
2. Revocación de consentimiento informado.
3. Paciente que después de la respuesta a tratamiento no acepte continuar en el estudio.

6.5 Técnica de muestreo.

Muestreo por conveniencia hasta alcanzar el tamaño de la muestra requerido.

6.6 Tamaño de la muestra:

Dado que no existe un nivel normal conocido de citocinas se determinó el tamaño de la muestra bajo el siguiente procedimiento:

Para un análisis con t-Student para muestras pareadas de la concentración inicial vs final de las citocinas, con un tamaño del efecto esperado de 0.2 y 0.3, nivel de significancia 0.05 y

poder estadístico de 0.8, nos basamos en la diferencia observada en dos estudios previos donde se evaluaron concentraciones antes y después de tratamiento usando la siguiente formula:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\left(\frac{(N_1 - 1)s_1^2 + (N_2 - 1)s_2^2}{N_1 + N_2 - 2}\right)\left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}\right)}}$$

Donde obtuvimos los siguientes resultados:

	<i>Ya-Mei-Bai - 2015.</i>		<i>Haozhe Li- 2015</i>	
	20%	30%	20%	30%
<i>IL-6</i> <i>Paired t</i> <i>test</i>	n = 40.81028 delta = 7582 sd = 16868 sig.level = 0.05 power = 0.8 alternative = two.sided	n = 19.2745 delta = 11373 sd = 16868 sig.level = 0.05 power = 0.8 alternative = two.sided		
<i>IL-2</i> <i>Paired t</i> <i>test</i>	n = 49.04397 delta = 158 sd = 387 sig.level = 0.05 power = 0.8 alternative = two.sided	n = 22.74814 delta = 238 sd = 387 sig.level = 0.05 power = 0.8 alternative = two.sided		
<i>TNF-alfa</i> <i>Paired t</i> <i>test</i>	n = 36.94756 delta = 270 sd = 570 sig.level = 0.05 power = 0.8 alternative = two.sided	n = 17.56427 delta = 405 sd = 570 sig.level = 0.05 power = 0.8 alternative = two.sided	n = 2.730637 delta = 12.45 sd = 3.14 sig.level = 0.05 power = 0.8 alternative = two.sided	n = 2.351122 delta = 18.7 sd = 3.14 sig.level = 0.05 power = 0.8 alternative = two.sided
<i>IL-23</i> <i>Paired t</i> <i>test</i>			n = 5.63901 delta = 14.2 sd = 9.4 sig.level = 0.05 power = 0.8	n = 3.815443 delta = 21.2 sd = 9.4 sig.level = 0.05 power = 0.8

IL-10 Paired t test	alternative	=	alternative	=
	two.sided		two.sided	
	n = 44.15704		n = 20.89471	
	delta = 0.91		delta = 1.36	
	sd = 2.11		sd = 2.11	
	sig.level = 0.05		sig.level = 0.05	
	power = 0.8		power = 0.8	
alternative	=	alternative	=	
two.sided		two.sided		

Artículo Ya-Mei. Bai

IL-6 disminuciones de 20 y 30 %

power.t.test (delta=7582, sd=16868, power=0.8, type="paired")

power.t.test (delta=11373, sd=16868, power=0.8, type="paired")

IL-2 disminuciones de 20 y 30 %

power.t.test (delta=158, sd=387, power=0.8, type="paired")

power.t.test (delta=238, sd=387, power=0.8, type="paired")

TNF-alfa disminuciones de 20 y 30 %

power.t.test (delta=270, sd=570, power=0.8, type="paired")

power.t.test (delta=405, sd=570, power=0.8, type="paired")

Artículo Haoze Li- 2015

TNF-alfa disminuciones de 20 y 30 %

power.t.test (delta=12.45, sd=3.14, power=0.8, type="paired")

power.t.test (delta=18.7, sd=3.14, power=0.8, type="paired")

IL-23 disminuciones de 20 y 30 %

power.t.test (delta=14.2, sd=9.4, power=0.8, type="paired")

power.t.test (delta=21.2, sd=9.4, power=0.8, type="paired")

IL-10, disminuciones de 20 y 30 %

power.t.test (delta=0.91, sd=2.11, power=0.8, type="paired")

power.t.test (delta=1.36, sd=2.11, power=0.8, type="paired")

Con lo anterior se determinó que de las citocinas con las que se hizo el cálculo de la muestra (IL2, IL6, TNF alfa, IL 23 e IL 10) el número de N requerido iba a ser 50 según el cálculo con IL2 que era el número mayor de muestra requerida, las otras citocinas a evaluar no se

podieron calcular debido a que en la búsqueda bibliográfica muestran datos parciales o incompletos.

6.7 Instrumentos de diagnóstico.

El diagnóstico de trastorno bipolar en fase de manía lo realizarán los psiquiatras de la clínica psiquiátrica de los diferentes turnos encargados del área de urgencias, posteriormente se realizará por parte del investigador confirmación de diagnóstico, de acuerdo a la evaluación clínica y entrevista semiestructurada, M.I.N.I SCID – IV, y la evaluación de manía con la escala de manía de Young.

6.7.1 M.I.N.I. SCID-IV-E.

Todos los sujetos contarán con evaluación y diagnóstico por parte del servicio de urgencias de la Clínica psiquiátrica y el diagnóstico Bipolar será confirmado mediante la M.I.N.I. Entrevista Clínica Estructurada para DSM-IV para Eje I versión español (SCID-I-E).

6.7.2 Escala de Manía de Young.

La Escala de Manía de Young es actualmente el instrumento más utilizado por clínicos e investigadores en este ámbito, con una probada validez para evaluar la gravedad/intensidad sintomática y la respuesta al tratamiento (ver anexo 3). Esta escala es heteroaplicada y requiere de un conocimiento sobre enfermedad mental por lo cual es aplicada por personal del área de salud mental, es de fácil aplicación y su poder de correlación entre sujetos es de 0.93. Sin embargo, se realizará un estudio de concordancia entre evaluadores.

La aplicación de la escala lleva un tiempo aproximado de 15 a 20 minutos y se aplica con preguntas directas y en base a la observación de la conducta del paciente.

A todos los participantes en el estudio se les realizará la Escala de Manía de Young al inicio del estudio y posteriormente cada semana.

6.8 Medición de Citocinas.

Se realizó la medición de Niveles de IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-23, TNF-alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF-alfa, mediante los kits de BD™ Cytometric Bead Array (ver anexos), los cuales se analizaron en el laboratorio de inmunología de la Facultad de Medicina de la UASLP.

Las muestras biológicas fueron destruidas durante su proceso y análisis, por lo que no quedan residuos de las mismas, en caso contrario, debido a que las pruebas fueron realizadas por la facultad de medicina de la UASLP, los desechos biológicos fueron tratados de acuerdo a las Normas de la Comisión Mixta de Higiene y Seguridad de la propia UASLP.

6.9 Procedimiento y control de calidad del análisis de citocinas en suero / plasma

A) Se siguieron las instrucciones y recomendaciones por el fabricante, realizando el siguiente procedimiento:

1. Se añadió 50 µl de la mezcla capturada a los tubos de ensayo correspondientes, posteriormente se agitó esta mezcla antes de agregarlas a los tubos de ensayo.
2. Se añadió 50 µl de la dilución estándar control a los tubos de ensayo.
3. Se agregaron 50 µl de cada muestra de prueba a los tubos de ensayo de prueba.
4. Se incubaron los tubos de ensayo durante 1.5 horas a Temperatura ambiente protegidos de la luz.
5. Se añadió 1 ml de buffer de lavado a cada tubo de ensayo y se centrifugó a una velocidad de 200 durante 5 minutos.
6. Se aspiró y desechó el sobrenadante, dejando aproximadamente 100 µl de líquido en cada tubo de ensayo.
7. Se añadieron 50 µl del reactivo de detección de citocinas inflamatorias al tubo de ensayo.
8. Se volvieron a Incubar los tubos de ensayo durante 1.5 horas a Temperatura Ambiente y protegidos de la luz. A la par se realizó la configuración del citómetro.
9. Se añadió 1 ml de buffer de lavado a cada tubo de ensayo y se centrifugó a una velocidad de 200 durante 5 minutos
10. Se aspiró y desechó el sobrenadante de cada tubo de ensayo.
11. Se añadieron 300 µl de buffer de lavado a cada tubo de ensayo para re-suspender el sedimento de microesferas.

B) En todas las corridas se incluyó un control negativo.

C) Se analizaron las muestras en el citómetro de flujo, mediante la calibración del mismo con las primeras 9 rejillas de cada kit de medición, para cada una de las citocinas y las curvas de calibración se corrieron por duplicado

D) Las muestras se analizaron una sola vez y de las muestras no se hicieron diluciones y tampoco hubo alguna muestra que se repitiera.

Se utilizó el citómetro de flujo modelo FACSCanto II de BD, este equipo está configurado con 3 láser lo que te permite detectar por arriba de 8 colores. El sistema de fluidos cuenta con una celda de flujo de alineación fija, lo que minimiza el tiempo de inicio y da mayor reproducibilidad de los resultados. Además, cuenta con un sistema óptico diseñado para maximizar la detección de la señal e incrementar la sensibilidad. El Forward scatter tiene una sensibilidad de 1 micra y el Side scatter de 0.5 micras

Los valores de sensibilidad de BD CBA Kits se resumen en el siguiente cuadro

Citocina	Valores de Sensibilidad (pg/ml)	Citocina	Valores de Sensibilidad (pg/ml)
IL-8	3.6	IL-10	3.3
IL-1β	7.2	TNF α	3.7
IL-6	2.5	IL-12	1.9
SRTNFα	3.2	IL-23	12.3
IL-2	11.2	sIL-2R	2.1

7. Análisis estadístico.

Definición operativa de las variables.

Potenciales Variables de Medición				
Variable	Escala	Medida	Control	
Id	Nombre	Descripción	Valores	Tipo
Edad	Edad	Número de años al inicio del estudio	18-55 años	continua
Tab	Índice tabáquico	(Número de cigarrillos fumados al día /20) años fumados	0 al infinito pg/ml	continua
Evol	Tiempo de evolución	Años transcurridos entre el diagnóstico de la enfermedad y el inicio del estudio.	0 a 55 pg/ml	conteo
IL1betai	IL 1 beta Inicial	Concentración sérica de IL 1 beta al inicio del estudio	0 a infinito pg/ml	continua
IL1betaf	IL 1 beta final	Concentración sérica de IL 1 beta al final del estudio	0 a infinito pg/ml	continua
IL8i	IL 8 inicial	Concentración sérica de IL 8 al inicio del estudio	0 a infinito pg/ml	continua
IL8f	IL 8 final	Concentración sérica de IL 8 al final del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
IL10i	IL 10 inicial	Concentración sérica de IL 10 al inicio del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
IL10f	IL 10 final	Concentración sérica de IL 10 al final del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
IL12i	IL 12 Inicial	Concentración sérica de IL 12 al inicio del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
IL12f	IL 12 Final	Concentración sérica de IL 12 al final del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
TNFalfai	TNF alfa inicial	Concentración sérica de TNF alfa al inicio del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua

TNFalfaf	TNF alfa final	Concentración sérica de TNF alfa al final del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
IL2i	IL 2 inicial	Concentración sérica de IL 2 al inicio del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
IL2f	IL 2 Final	Concentración sérica de IL 2 al final del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
IL6i	IL 6 Inicial	Concentración sérica de IL 6 al inicio del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
IL6f	IL 6 Final	Concentración sérica de IL 6 al final del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
IL 23i	IL 23 inicial	Concentración sérica de IL 23 al inicio del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
IL23f	IL 23 Final	Concentración sérica de IL 23 al final del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
rsIL2i	Receptor soluble de IL 2 inicial	Concentración sérica del receptor soluble de IL 2 al inicio del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
rsIL2f	Receptor soluble de IL 2 Final	Concentración sérica del receptor soluble de IL 2 al final del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
rsTNFai	Receptor soluble de TNF alfa inicial	Concentración sérica del receptor soluble de TNF alfa al inicio del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
rsTNFaf	Receptor soluble de TNF alfa final	Concentración sérica del receptor soluble de TNF alfa al final del estudio	0 a infinito pg/ml	Continua
Young	Escala de young	Puntaje obtenido en la escala de young	0 - 60	Conteo

Para el análisis estadístico los datos demográficos de los participantes se realizó un análisis descriptivo de cada variable, se utilizaron porcentajes para las variables nominales y para las variables continuas se usaron la media o mediana de acuerdo a la distribución y las

medidas de dispersión se expresaron como desviación estándar. Para el análisis comparativo de las variables de interés se realizó t-pareada o su contraparte wilcoxon, dependiendo si no cumplían con las asunciones para t.

Los datos se computaron en el programa Excel 2010 y el paquete estadístico empleado para este análisis fue el programa R versión 3.6.1 (2020) y el valor de significancia estadística que se tomó de referencia fue menor o igual a 0.05

Para fines estadísticos, los niveles menores de Limite de Detección fueron sustituidos por $LD/\sqrt{2}$

8. Resultados.

Para la presente investigación se realizó un cálculo de la muestra basado en la diferencia de la concentración Inicial vs Final de las citocinas encontradas previamente por diferentes autores. Se escogieron las citocinas IL2, IL6, IL 10, IL 12, IL 23 y TNF alfa, teniendo en cuenta un tamaño del efecto esperado de 0.2 y 0.3, nivel de significancia 0.05 y poder estadístico de 0.8, se escogió el cálculo de la IL-2 que nos diera mayor número de sujetos necesarios para la investigación, el cual fue 50, con un tamaño del efecto de 0.2, (las otras citocinas rondaron los 40 sujetos). Sin embargo, en la obtención de resultados no se pudo detectar IL 2, por lo que se tomó el cálculo de muestra de la IL 6, la cual fue la segunda con mayor requerimiento de muestra, teniendo así una N de 40 sujetos. Sin embargo para valorar el impacto de esta disminución de la muestra se realizó el cálculo del poder estadístico el cual nos dio el siguiente resultado: Paired t test power calculation, $n = 43$; $\delta = 605$; $sd = 705$; $sig.level = 0.05$; $power = 0.999796$

Dadas las condiciones de la pandemia por Covid-19 no se pudo continuar con el ingreso de pacientes, solo se completaron 43 sujetos de investigación. Todos los sujetos fueron hospitalizados con diagnóstico de Trastorno Bipolar tipo 1 en fase de manía y egresados hasta su recuperación.

Las características sociodemográficas de los 43 sujetos se describen en la tabla 1 (ver tabla 1) donde destaca que la edad media fue de 38 años (DE= 10.3), la distribución entre hombres y mujeres fue similar con un número de 23 mujeres y 20 hombres, la mayoría de los sujetos contaban con educación básica o mayor y el 20% con licenciatura o postgrado, lo que refleja una distribución cercana a la población general. Es de llamar la atención que, aunque la población está en edad productiva solo la mitad de ellos (49%) se encontraba realizando alguna actividad económica, es decir que es probable que se deba al impacto de la enfermedad sobre la adecuada funcionalidad laboral y probablemente sobre la funcionalidad de socialización y relación (en menor grado) ya que solo el 60% vivía en pareja (ver tabla 1).

Además observamos que más de la mitad (58%) era de clase socioeconómica baja y el resto de clase socioeconómica media (42%) y ninguno de clase alta. La distribución observada en la población general siempre se ha descrito igual en las diferentes clases sociales, sí que consideramos que pueda ser debido al impacto funcional.

Tabla 1. Características sociodemográficas.

PACIENTES CON TRASTORNO BIPOLAR EN MANÍA				
N=43				
VARIABLE	DESCRIPTIVA			
Edad	Mín =19	Máx = 55	Media = 38	DE = 10.36
VARIABLE	CATEGORÍA	N	PORCENTAJE	
Sexo	Femenino	23	53.50%	
	Masculino	20	46.50%	
Escolaridad	Primaria	6	13.95%	
	Secundaria	12	27.91%	
	Bachillerato	16	37.21%	
	Licenciatura	8	18.60%	
	Posgrado	1	2.33%	
Ocupación	Inactivo	13	30.23%	
	Hogar	11	25.58%	
	Empleado	13	30.23%	
	Profesionista	6	13.96%	
Estado Civil	Pareja	27	62.79%	
	Soltero	16	37.21%	
Nivel Socioeconómico	Bajo	25	58.14%	
	Medio	18	41.86%	
Procedencia	Urbana	22	51.16%	
	Rural	21	48.84%	

En el análisis descriptivo de las variables clínicas observamos que menos de la mitad eran consumidores de alcohol (44%) sin embargo no determinamos el nivel de consumo de este, para el consumo de sustancias el 87% menciona no haberlas consumido y solo el 13 % haber consumido de manera experimental, sin datos de dependencia. En nuestra muestra el 93% no contaba con ninguna comorbilidad, lo cual es alto para lo reportado en otros estudios sin embargo esto podría deberse a la media de edad de esta población (38 años), y a los criterios de selección que requerían que no tuvieran otra comorbilidad (ver tabla 2). También observamos que, aunque es una población relativamente joven el tiempo de inicio de la enfermedad superó los 10 años (media de 15 años) y el número de episodios fue superior a 5 (ver tabla 3).

Tabla 2. Características Clínicas Antecedentes

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS ANTECEDENTES			
VARIABLE	CATEGORÍA	N	PORCENTAJE
Alcoholismo	Negado	24	55.81%
	Positivo	19	44.19%
Consumo de sustancias	Negativo	36	83.72%
	Positivo	7	16.28%
Antecedentes Familiares	No	18	41.86%
	Sí	25	58.14%
Comorbilidad médica	Ninguna	40	93.02%
	HTA	2	4.65%
	DM-HTA	1	2.33%

Respecto a los parámetros clínicos como índice de masa corporal e índice tabáquico, el primero tuvo una media de 28 y el índice tabáquico una media de 2.5 y una mediana de 0, lo cual también es bajo para lo reportado en otros estudios (ver tabla 3), de hecho, más del 50% tenía un índice tabáquico de 0.

Tabla 3. Características clínicas de estado y evolución

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS EVOLUCIÓN				
VARIABLE	LIMITES		MEDIA / MEDIANA	DE / IQR
Peso	Mín = 49	Máx = 108.3	Media = 77.42	DE = 12.15
Talla	Mín = 1.42	Máx = 1.84	Media = 1.65	DE = 0.096
IMC	Mín = 18.1	Máx = 40	Media = 28.52	DE = 5.18
Edad de diagnóstico	Mín = 14	Máx = 42	Mediana = 21	IQR = 9
Hospitalizaciones	Mín = 0	Máx = 10	Mediana = 2	IQR = 1
Número de episodios depresivos	Mín = 0	Máx = 8	Mediana = 0	IQR = 1
Número de episodios maníacos	Mín = 0	Máx = 13	Mediana = 2	IQR = 3
Número de episodios mixtos	Mín = 0	Máx = 5	Mediana = 0	IQR = 1
Episodios totales	Mín = 1	Máx = 22	Mediana = 5	IQR = 5
Tiempo de evolución	Mín = 0	Máx = 38	Media = 15.63	DE = 10.13
Índice Tabáquico	Mín = 0	Máx = 23.25	Mediana = 0	IQR = 1.25

Los resultados obtenidos de las concentraciones de citocinas tanto inicial como basal no siguieron una distribución normal por lo que se reporta la mediana, el IQR y sus mínimos y máximos (ver tabla 4) dado que en algunas mediciones de citocinas no se detectaron concentraciones en suero se decidió hacer una corrección en relación al límite de detección de cada citocina proporcionada por el fabricante de los kits CBA (ver anexo 4). Para esta corrección se utilizó la fórmula de la raíz cuadrada del valor mínimo de detección entre 2, lo cual es aceptado en los análisis de esta naturaleza. Los niveles de citocinas iniciales y finales se compararon con los valores de referencia que se mencionan en otros estudios respecto a controles sanos. Todas las medianas se encontraban por encima de los valores normales (ver tabla 5).

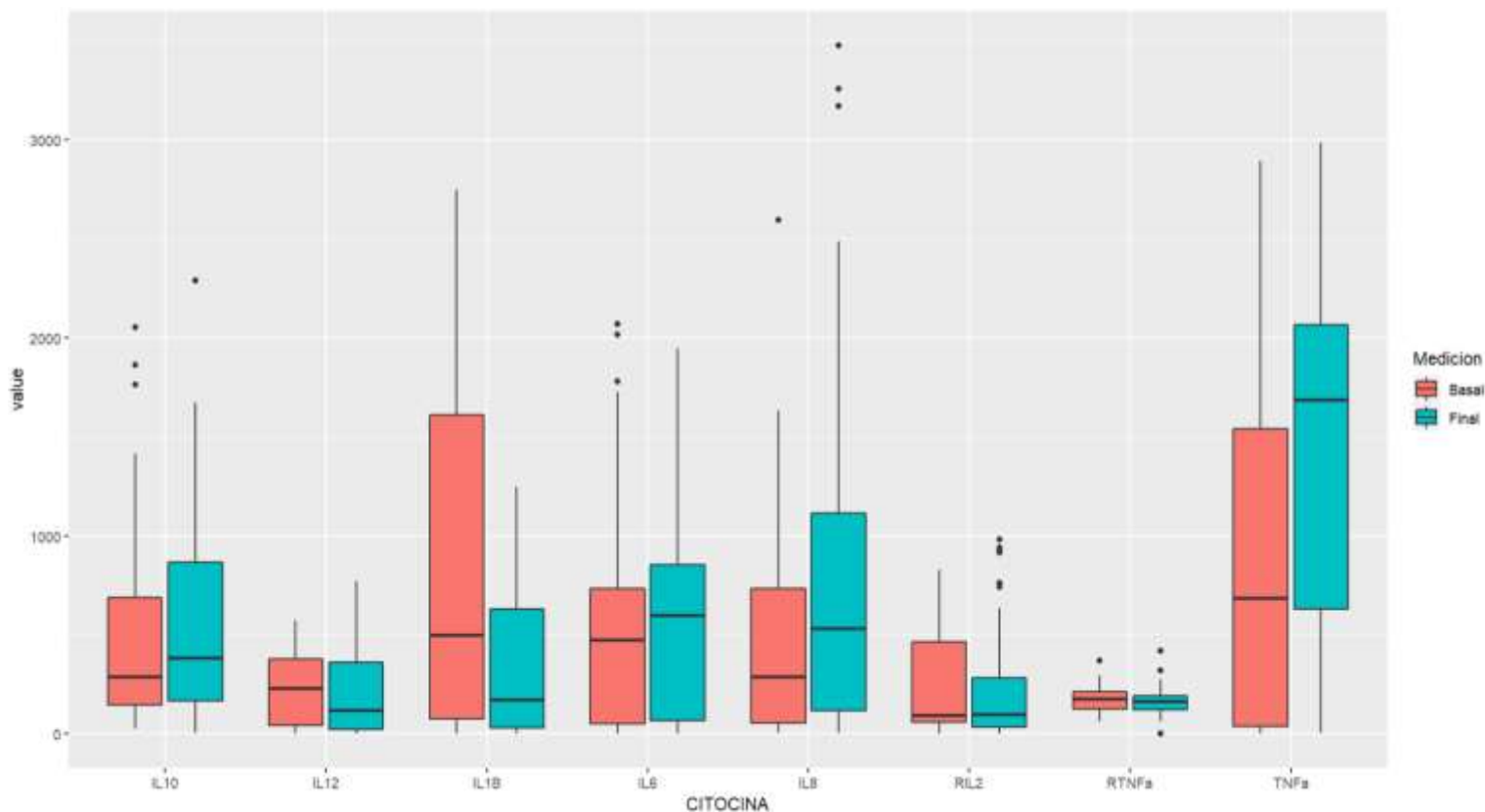
Tabla 5. Concentraciones de citocinas inicial y final

CITOCINA	INICIAL Mediana (IQR / Mín, Máx) N = 43	FINAL Mediana (IQR / Mín, Máx) N = 43	VALORES DE REFERENCIA*
IL1B	498 (1566 / 1.3, 2746.2)	171 (617 / 1.3, 1247.4)	0.5 (0.1, 0.9)
IL8	287 (727 / 3.8, 2594.9)	529 (1104 / 3.9, 3474)	32 (16, 100)
IL10	285 (587 / 26.5, 2051.2)	381 (730 / 4.8, 2287.1)	3 (2.6, 4.9)
IL12	229 (357 / 2.5, 570.9)	116 (356 / 0.7, 771.6)	28
TNFa	683 (1602 / 3.6, 2890.7)	1684 (1463 / 4.9, 2983.6)	42 (7, 99)
IL6	473 (732 / 1.1, 2071.4)	598 (812 / 0.8, 1943.6)	20 (1, 100)
sIL2R	92 (426 / 1.7, 827.2)	99 (289 / 1.7, 982.3)	100 (75, 125)
SRTNFa	176 (90 / 63, 371)	162 (72 / 3.2, 419.1)	-
*Valores de referencia fueron tomados de reportes en la literatura			

Se realizó la medición de citocinas en los diferentes escenarios, Manía y Respuesta a tratamiento (recuperación) y se graficó en qqplot para observar gráficamente las diferencias entre ellas (grafica1). En estas gráficas se puede observar que existe disminución de IL-1B y de sIL-2R, y un incremento en IL 10, IL 6, IL 8 y TNF a (ver grafica 1). Para determinar si estas diferencias eran significativas se procedió al análisis inferencial.

Para el análisis inferencial primero se realizó la descripción de las características de las mediciones de las diferentes citocinas la cual se resume en la tabla 2 (ver tabla 2) Posteriormente en el análisis se utilizó t-Student pareada o su contraparte de Wilcoxon, para cada una de las diferentes citocinas, sin embargo, dado que no se obtuvieron resultados para IL-2 y los datos obtenidos de IL-23 fueron insuficientes (menos del 50%) solo se realizó este análisis para IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-12, IL-10, TNF-alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF-alfa.

Grafica 1. Diferencia de concentración de citocinas basal y final



La normalidad de la diferencia fue evaluada con qqplot y el test de Shapiro-Wilks, donde se observó que los datos no mostraron una distribución diferente a la distribución normal para la IL 1B, IL-10, IL 12 y TNF-a, obteniendo para IL-10 con Shapiro-Wilks test una $W=0.96$ y $p=0.24$ y para TNF-a una W de 0.97 y una $p=0.034$. Para IL-1B, Shapiro-Wilks test una $W=0.94$ y para IL 12 una W de 0.94 y una $p=0.032$. En consecuencia, la diferencia de las medias para estas citocinas fue evaluada con t-Student pareada. Así la diferencia entre las medias para la IL-10 antes y después de la respuesta al tratamiento obtuvo un resultado de $t=1.044$ con $df=42$ y una $p=0.302$, con un tamaño del efecto $r=0.15$ y para TNF-alfa se obtuvo una diferencia de t pareada $t=3.03$, $df=42$ con una $p=0.004$, y un tamaño del efecto de 0.42 ; para IL 1 B, t pareada $t=3.28$ con una $p=0.002$ y para IL 12 un valor de t pareada $t=0.27$ y $p=0.78$ (ver tabla 6)

Para las demás citocinas la distribución fue diferente a la normal, teniendo resultados para IL 8 un valor de $W=0.867$ con una $p=0.014$, para IL-6 una $W=0.93$ y $p=0.034$, para el sIL-2R un valor de $W=0.89$ con una $p=0.001$ y para el sRTNF-alfa una W de 0.738 con una $p=0.013$. Por lo anterior se realizó suma de rangos de Wilcoxon obteniendo los siguientes resultados: para IL-8 se obtuvo una $W=1.727$, con una $p=0.08$ y un tamaño del efecto $r=$

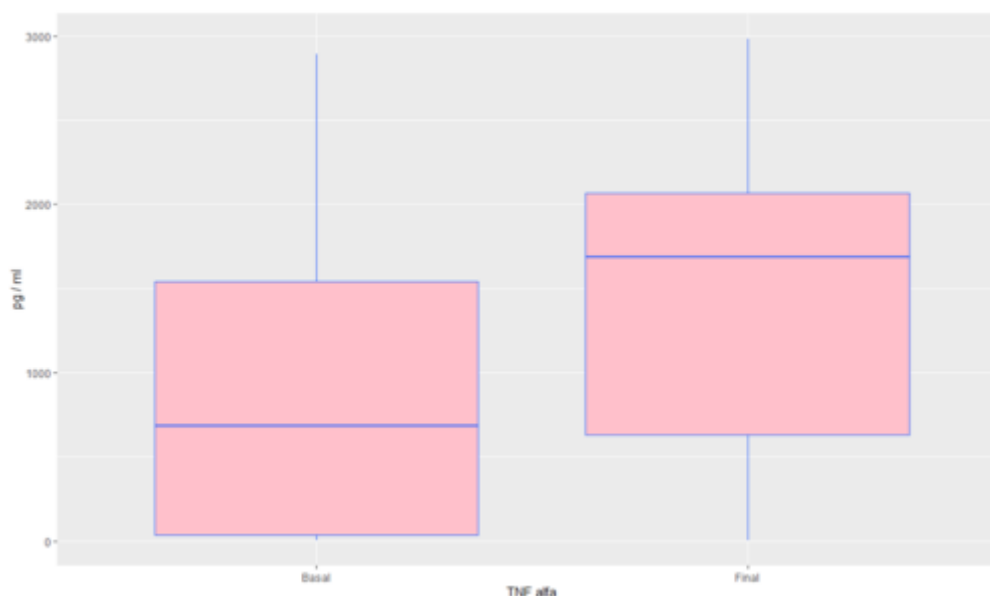
0.35; para IL-6 una $W = 0.881$, una $p = 0.378$ y un tamaño del efecto de $r = -0.14$; para el sIL-2R se obtuvo una $W = 0.549$, con una $p = 0.582$ y un tamaño del efecto $r = 0.002$ y por último para el receptor soluble de TNF- α se obtuvo una $W = 1.449$, con una $p = 0.147$ y un tamaño del efecto de $r = -0.14$. (ver tabla 6).

Tabla 6. Diferencia de concentraciones inicial vs final de citocinas

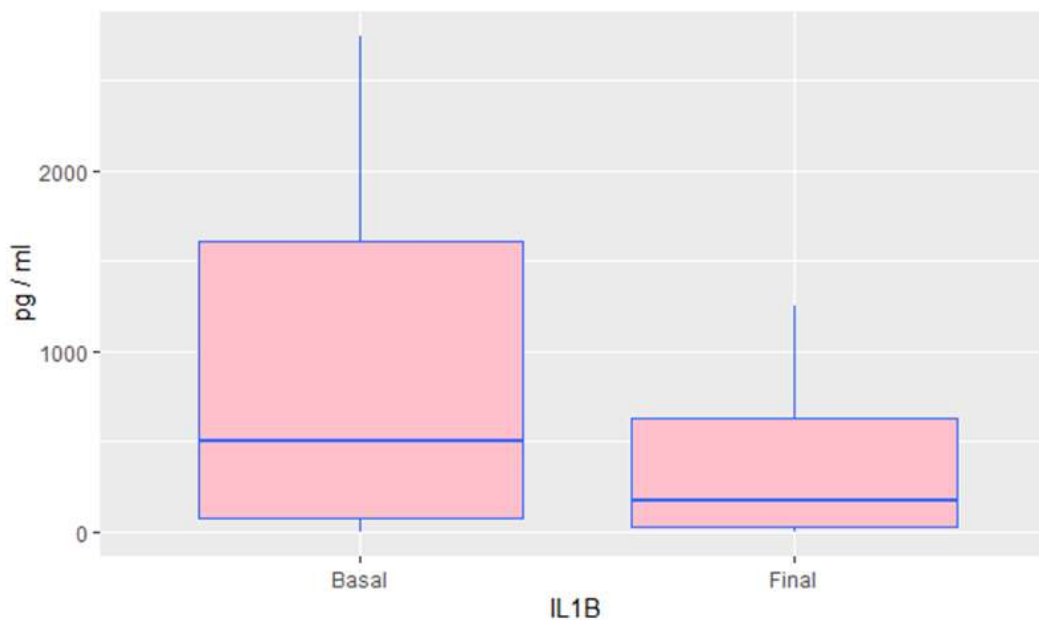
CITOCINA	INICIAL MEDIA (DE) N = 43	FINAL MEDIA (DE) N = 43	DIFERENCIA MEDIAS	ESTADÍSTICO DE PRUEBA	VALOR P
IL1B	851.95 (854.88)	358.40 (387.41)	493.55	t = 3.28	0.002
IL8	461.85 (530.61)	846.04 (953.92)	384.19	W = 1.727	0.084
IL10	504.27 (521.67)	589.70 (535.18)	85.43	t = 1.04	0.302
IL12	222.88 (180.01)	209.48 (210.27)	13.4	t = 0.27	0.784
TNFα	938.68 (918.40)	1483.7 (942.58)	545.01	t = 3.03	0.004
IL6	556.59 (597.48)	580.69 (499.62)	24.09	W = 0.881	0.378
sIL2R	237.85 (249.17)	247.32 (302.78)	9.46	W = 0.549	0.582
sRTNFα	178.95 (67.97)	165.98 (73.35)	12.97	W = 1.449	0.147

Teniendo en cuenta estos resultados se graficó en qqplot para observar específicamente esta diferencia de las citocinas con diferencia estadísticamente significativa (TNF α e IL 1B).

Grafica2. Diferencia de concentración de TNF α Inicial vs Respuesta



Gráfica 3. Diferencia de concentración de IL 1B Inicial vs Respuesta



Con los datos anteriores podemos observar que sola la diferencia de TNF-alfa e IL-1B tuvieron una diferencia estadísticamente significativa respecto a la medición inicial y posterior a la respuesta a tratamiento, donde se observa un incremento de TNF a y una disminución de IL- 1B.

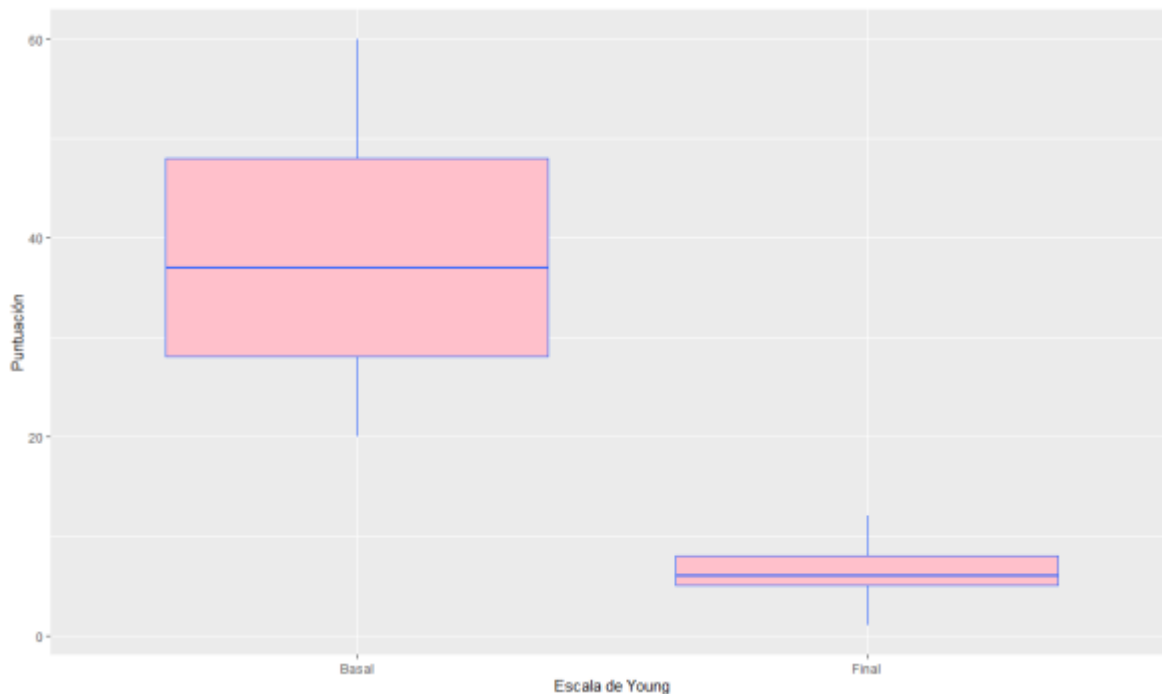
Posterior al análisis del objetivo principal se realizó el análisis estadístico para la diferencia entre el puntaje inicial y el puntaje posterior a tratamiento de la escala de manía de Young teniendo un resultado de t pareada = 19.96 con un valor de $p < 0.001$ (ver tabla 7)

Tabla 7. Diferencia de la escala de manía de Young inicial y final.

VARIABLE	BASAL MEDIA (DE) N = 43	FINAL MEDIA (DE) N = 43	DIFERENCIA MEDIAS	ESTADÍSTICO T	VALOR-P PRUEBA-T
Escala Young	38.30 (11.40)	6.1 (2.32)	32.13	19.96	<0.001

Existe una diferencia claramente significativa, pero esto es debido a que era un criterio de ingreso tener manía (una puntuación alta) y el criterio para determinar respuesta era presentar un puntaje por debajo de 12 a lo que posterior a ello se tomó la muestra final.

Grafica 4. Diferencia de la escala de manía de Young inicial y final



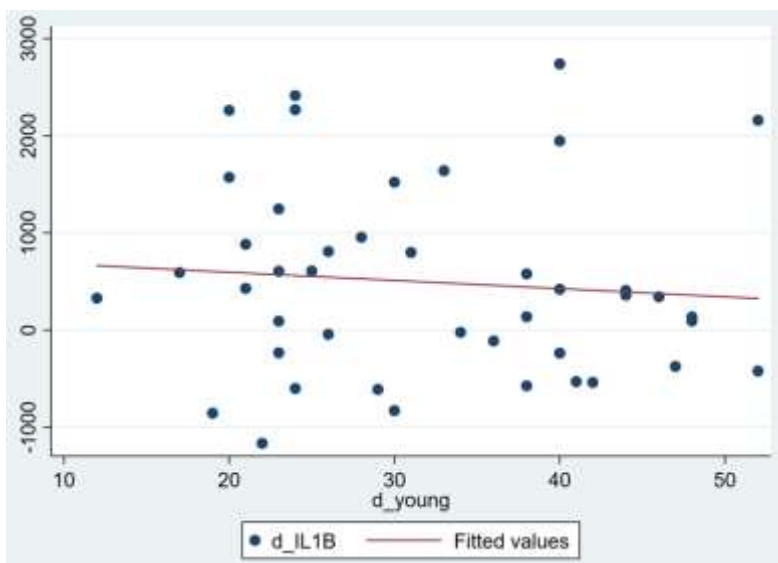
Se calcularon las diferencias entre la medición inicial y la medición final de todas las citocinas, así como del puntaje en la escala de manía de Young. De este modo se obtuvieron tres nuevas variables de interés que corresponden a estas diferencias (inicial– final), se evaluaron los supuestos de normalidad por medio de la prueba de Shapiro-Wilk y se procedió al análisis de correlación de Pearson para las que exhibieron una distribución normal y Spearman para las que no cumplían los supuestos (ver tabla 8). No se encontró una correlación con ninguna diferencia Inicial basal de ninguna citocina en relación con la diferencia de la escala de manía de Young.

Tabla 8. Correlación diferencia citocina con la diferencia de la escala de manía de Young

Variable	Coficiente	Valor-p	Correlación
Dif_IL1B	-0.09	0.564	Pearson
Dif_IL8	-0.24	0.111	Spearman
Dif_IL10	0.17	0.252	Pearson
Dif_IL12	-0.05	0.731	Spearman
Dif_TNFa	-0.03	0.829	Pearson
Dif_IL6	0.03	0.832	Spearman
Dif_RIL2	-0.09	0.553	Spearman
Dif_RTNFa	-0.02	0.879	Spearman

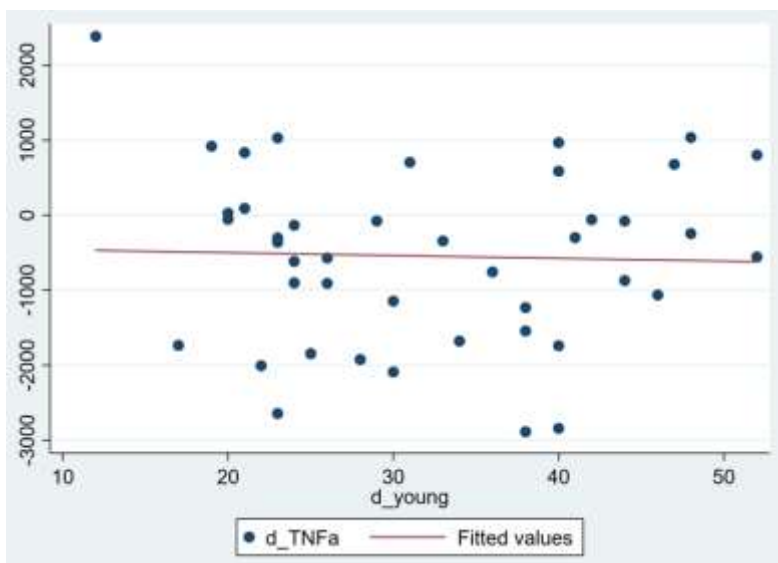
Se graficaron las correlaciones de las diferencias de las citocinas que fueron estadísticamente significativa con la diferencia en la escala de manía de Young (ver grafica 5 y 6), las cuales no muestran dicha correlación.

Grafica 5. Correlación entre la diferencia en IL1B y la diferencia en la escala de Young



El coeficiente de correlación de Pearson entre estas dos variables es de -0.09 con un valor-p de 0.56 por lo que se concluye que la correlación lineal no es estadísticamente significativa como lo sugiere el gráfico de dispersión (ver grafica 5)

Grafica 6. Correlación entre la diferencia en TNFa y la diferencia en la escala de manía de Young



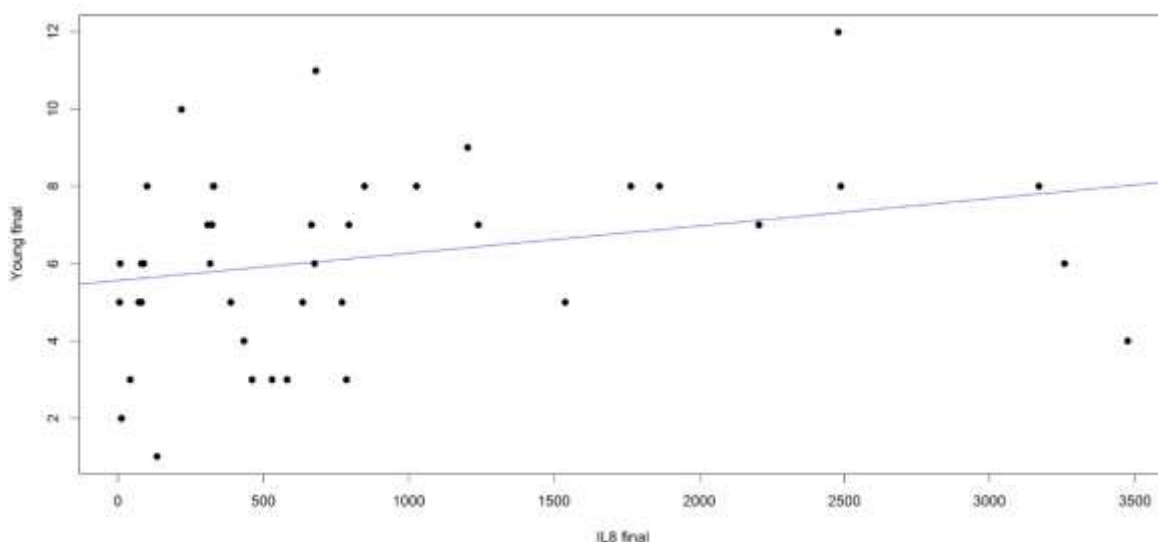
El coeficiente de correlación de Pearson entre estas dos variables es de -0.03 con un valor-p de 0.83 por lo que se concluye que la correlación lineal no es estadísticamente significativa como lo sugiere el gráfico de dispersión (grafica 6)

Dado que no se encontró ninguna correlación con la diferencia de las mediciones se exploró si existía correlación de la concentración de las citocinas al inicio con el puntaje de la escala de manía de Young. Esto para valorar si alguna citocina pudiera relacionarse con la gravedad de la manía. Dado que ninguna seguía una distribución normal se analizó esta correlación con el coeficiente de Spearman sin encontrar ninguna correlación (ver tabla 9). Así mismo se realizó el mismo análisis de correlación para los niveles de citocinas finales, esto con la finalidad de valorar si había relación entre alguna citocina y la respuesta a tratamiento (un biomarcador de respuesta). Se encontró que, si existe relación de IL 8 con un menor puntaje en la escala de manía de Young, es decir que IL 8 podría ser un marcador de respuesta.

Tabla 9. Correlación de citocinas (inicial/final) con escala de manía Young (inicial/final)

INICIAL	Coefficiente Spearman	Valor-p	FINAL	Coefficiente Spearman	Valor-p
IL1B	0.16	0.283	IL1B	0.19	0.207
IL8	0.27	0.076	IL8	0.35	0.021
IL10	0.2	0.194	IL10	0.26	0.085
IL12	0.2	0.186	IL12	0.08	0.609
TNFa	0.08	0.606	TNFa	-0.1	0.521
IL6	-0.16	0.291	IL6	-0.12	0.414
RIL2	0.09	0.559	RIL2	0.05	0.713
RTNFa	-0.22	0.143	RTNFa	-0.11	0.453

Grafica 7. Correlación negativa de IL-8 con la escala de manía de Young



8.- Discusión.

Nuestros resultados son consistentes con los reportados en la literatura en referente a las características sociodemográficas, no siendo así para las características clínicas ya que esta población tiene menos comorbilidades que las reportadas en otros estudios, esto debido a los criterios de selección de nuestro estudio. Pudimos observar que la media para la edad de aparición de la enfermedad fue de 22 años, lo que es consistente con la literatura que reporta una edad media de presentación de aproximadamente 21 años, siendo reportado un predominio de edad al diagnóstico entre la segunda y tercera década de la vida⁶³.

En nuestra población en cuanto al tiempo de evolución nuestros pacientes presentaron una media de enfermedad de 15.6 años, y un número medio de episodios por paciente de 5.8 con una mediana de 6.2, predominando en la mayoría 3 a 4 episodios en toda su vida, estos resultados son similares a los reportados en 2010 por Solomon y colaboradores⁶⁴, quienes encontraron una mediana del número de episodios presentados de 4 y una media de 5.5. Por otra parte, Judd y colaboradores, en un periodo de seguimiento de 20 años, encontraron que los pacientes con TAB I presentaban una mediana de 6 episodios por año⁶⁵, A si mismo Dervic y colaboradores en un análisis retrospectivo de 685 pacientes, encontraron que los pacientes con TAB I presentaban una media de 6.4⁶⁶.

Respecto a nuestro objetivo no fue posible determinar si el cambio en las concentraciones de IL-1beta, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-23, TNF-alfa, Receptor soluble de IL-2 y del Receptor soluble de TNF-alfa, correlacionan con respuesta al tratamiento según la escala de manía de Young. Solo encontramos una diferencia significativa en las concentraciones TNF-alfa, con un incremento posterior a la respuesta a tratamiento y una disminución de la concentración de IL 1 Beta, todas las demás solo presentaron un ligero cambio general. Pareciera que estos no presentan una dirección para enfocarnos en un biomarcador de respuesta, sin embargo, si pudiera representar el momento fisiológico de un episodio agudo como es la manía.

En este estudio no se pudo detectar las concentraciones de dos citocinas, IL 2 e IL 23, por lo que realizamos una búsqueda en otras investigaciones y encontramos que se ha documentado dificultad en la detección de citocinas aun cuando se siguen las recomendaciones de los fabricantes sobre los procedimientos de medición y las recomendaciones del National Institute for Biological Standards and Controls. Algunos investigadores han referido que esto se pueda deber a un efecto dadas las diferencias en la matriz que se usa para su medición, existencia de moléculas (receptores, proteínas de unión y anticuerpos) que interfieren en la concentración de citocinas, así mismo debido a la degradación enzimática y producción de citocinas por las células de la sangre dentro del tubo de ensayo. Como medida general es aceptable la medición en suero y plasma dado que hasta el día de hoy es la mejor forma de detección. Para nuestro estudio se usó tubo sin ningún aditivo o anticoagulante desconocemos si la baja detección se debió a

degradación enzimática, la unión con el receptor que inhibe la unión del antígeno en la citometría de flujo o en el momento fisiológico de la enfermedad son indetectables esas citocinas. En dos meta-análisis^{44 y46} encontraron la misma circunstancia que nosotros en diferentes citocinas, por lo que en los estudios solo se reportaba que al no encontrar alguna citocina esta se excluía del estudio y del reporte, solo haciendo mención que no fue detectada, en otros casos si no sobrepasaba el 50% de las muestras, se añadía la mitad del límite de detección a la media de ambos grupos para permitir la inclusión en los estudios.

Es así como en general y debido a estas posibles variaciones, ya sea en los procesos de medición o porque definitivamente no se pueden detectar, el resultado de las citocinas tiene valor como marcadores de actividad o pronóstico, no como valor absoluto como en otras determinaciones de laboratorio.

Específicamente con la IL 2 la detección puede depender del momento fisiológico en el que se encuentre, su vida media, la unión al receptor, manejo y procesamiento de la muestra. Respecto a la unión a su receptor (sIL-2R), una peculiaridad es la existencia de al menos dos cadenas, capaces de unirse a la IL-2 con diferente afinidad (alfa con baja afinidad y beta con afinidad media). Es probable que la alta afinidad de sIL-2R se deba a la combinación de la forma alfa y beta, lo que es responsable de internalización de ligandos. Existe evidencia de que la cadena beta traduce la señal de IL-2 y que los linfocitos T activados también liberan una forma soluble de esta proteína sIL-2R, y ya que esta puede unirse a su ligando IL-2 afecta la respuesta inmunitaria de ésta regulando su acción⁶⁷.

Entonces una pobre concentración de IL 2 podría ser observada por una regulación a la baja de una activación sIL-2R y a la par la presencia de la expresión de este receptor una comprobación indirecta de la actividad anterior de IL-2, lo cual podría ser una explicación del porque no se pudo detectar IL 2 pero si su receptor en concentraciones altas. Esto nos lleva a pensar que es probable que los pacientes cuando son internados por un episodio de manía ya tengan varios días de activación de IL-2⁶⁷.

Lo anterior descrito nos hablaría de una respuesta de tipo Th1 ya que los linfocitos T activados (linfocitos TCD4+) producirían IL-2 principalmente y las células TCD8+ en menor proporción, lo que promovería proliferación de células T, a través de las tres subunidades β del receptor de membrana, que una vez activado liberaría sIL 2R en suero. Se ha observado que los antígenos y coestimuladores cuando activan las células T estimularán la transcripción del gen de la IL-2, así la síntesis y secreción de la misma aunque de manera transitoria, con un pico de secreción de unas 8 a 12 horas posterior a la activación, y la concentración podría sostenerse por unos días, lo cual explica porque pueden presentar niveles bajos de esta citocina si los pacientes tienen días de haber iniciado un episodio de manía previo a la hospitalización. Es diferente con el sIL-2R que normalmente se pueden encontrar en los exámenes aun en estados no inflamatorio, pero con niveles superiores refleja una excesiva activación linfocitaria⁶⁸.

En estudios de procesos inflamatorios inducidos y controlados (cirugías) se ha observado que los niveles séricos de IL-2 se elevó antes del primer día de cirugía con una caída en los primeros 5 días en contra parte el sIL-2R aumenta 24 horas después de cirugía y/o transfusión, y alcanzan un pico al quinto día posoperatorio con una disminución gradual⁶⁹. Se ha descrito en procesos de inflamación aguda, que de manera secundaria habrá la supresión de la inmunidad posterior a que las células T disminuyen su actividad, como y que una respuesta fisiológica desencadenada de un estrés quirúrgico lo cual tendría que corroborarse si sucede de manera similar en el trastorno bipolar. Por ello se postula que existe un mecanismo hasta ahora poco conocido que genera los niveles sistémicos de IL-2 y de sIL-2 y a su vez se autorregula una vez que ya activo una parte de la cascada inflamatoria y antiinflamatoria, lo cual podría jugar un rol significativo en la “inmunodeficiencia” del trastorno bipolar⁶⁹.

Otra explicación posible es que la baja cantidad de IL 2 sea una alteración de la respuesta inmunológica, ya que se ha observado una disminución en la síntesis de IL-2 in vitro en sujetos con cáncer y enfermedades autoinmunes esto mediado por actividad de los monocitos que producirán PGE2 (prostaglandina E2), y esto inhibiría la síntesis de IL-2 (in vitro), para comprobar esto habría que medir a la par la actividad y síntesis de ambas vías.⁷⁰

Con TNF- α pareciera ser diferente, la mayoría de las publicaciones en específico el meta-análisis de Munkholm y Mobediam observan valores significativamente altos en pacientes con trastorno bipolar en cualquiera de sus fases (manía, depresión, eutimia) en comparación con los controles, pero similares en depresión y manía^{44, 46}. Es decir TNF- α se encuentra en un estado basal alto pero incrementa aún más cuando se está en alguna fase de la enfermedad, lo cual también fue un hallazgo en nuestros resultados (la presencia de concentraciones elevadas). Con el receptor sTNFR1 pasa la misma situación, existe mayores concentraciones en bipolares eutímicos versus controles y mayormente en manía versus eutímicos.

Entonces conjuntando los resultados obtenidos en los estos metanálisis^{44 y 46} sobre IL-2, sIL-2R, TNF- α y sTNFR1 se podría interpretar que existen datos que apoyan una activación Th1 y otros donde existe una ausencia de activación prominente en las citocinas dependientes de Th1 (IL-2, INF- γ), sin embargo los datos encontrados en las mismas revisiones de resistencia a los glucocorticoides, inducción de indolamina 2,3-dioxigenasa y aumento de TNF y el receptor sTNFR1 sugieren que si existe esta activación. Nosotros consideramos que en realidad estamos hablando de momentos diferentes en la evaluación de los fenómenos inmunológicos en el trastorno Bipolar, lo cual trataremos de exponer.

En la información de estudios previos ^{44,46 y 68} queda claro que existe un estado proinflamatorio de los pacientes bipolares eutímicos comparados con controles y un incremento de citocinas inflamatorias y antiinflamatorias en los estados de manía o depresión. Entonces estos datos “contrarios” puede ser debido al efecto del tiempo en el que son evaluados o a un efecto del tratamiento, algo que nosotros queríamos determinar

pero que no encontramos diferencias posterior al tratamiento. Al respecto de esto Potvin en un metanálisis sobre las alteraciones de las citocinas en la esquizofrenia hace referencia que la actividad antiinflamatoria es por un efecto potenciador de los medicamentos sobre algunos células que activan la cascada antiinflamatoria específicamente menciona el receptor de IL-2 (siL-2R) y que por ello se mantiene alto a pesar del control de la estabilidad clínica de los pacientes⁷¹. Esto podría ser una de las razones por las cuales encontramos siL 2R elevado en la evaluación inicial y final ya que no se controló el probable efecto de los diferentes tratamientos sobre las citocinas, pero consideramos que la presencia de este aumento en las concentraciones no pudiera atribuirse totalmente al tratamiento dado que los pacientes en fase de manía a su ingreso, (evaluación inicial), la mayoría se encuentra sin tratamiento o con tratamiento insuficiente, entonces al agregar un tratamiento incrementaríamos o potenciaríamos su expresión, cosa que no sucede, solo se mantiene.

Por lo anterior consideramos que este incremento pudiera deberse a la señalización de IL-2 sobre su receptor, y el involucramiento de las otras citocinas y reguladores. Así en la cadena de sucesos de la respuesta mediada por las células derivadas de Th 1, incrementa los niveles de IL-2, lo que activa la liberación de RsiL-2, para unirse a su ligando IL-2 regulando su acción y sosteniéndose en concentraciones altas ya que continua la activación de IL-2 mediada por TH1, esta modulación se traducirá en la transducción de señales que dan como resultado la proliferación celular y la expansión clonal de células T activadas; antagonista del receptor de IL-1 (IL1ra), un receptor soluble que inhibe naturalmente el efecto proinflamatorio de la IL-1 β , esto concuerda con nuestros resultados ya que se encontró una disminución significativa de IL-1 β ⁷².

A esta información se puede agregar que algunos estudios han reportado niveles bajos o nulos de IL-2 en más de la mitad de pacientes y controles, especialmente en pacientes con remisión inmediata de depresión y niveles por debajo del límite de detección del método (2,6 pg/ml) en los que se encontraban en remisión sostenida. Por ello no es raro pensar que IL-2 se incrementa de forma aguda en el inicio de una fase y después disminuye como efecto de las citocinas y mecanismos antiinflamatorios. A su vez IL-2 podría ser un factor clave para mantener la homeostasis de las células Treg, ya que el incremento de IL-10 es el principal producto de Treg. Este incremento de IL-10 también fue observado en nuestro estudio sin embargo se mantenía en la evaluación inicial y ante la respuesta. Sin embargo, se ha observado que en pacientes bipolares en remisión inmediata de manía, como en este estudio, presentan concentraciones más altas de IL-10 en comparación con sujetos sanos y pacientes con remisión sostenida. Es decir que la disminución de la concentración de IL-10 es probable que se dé cuando la remisión es sostenida⁷²

Estos datos empatan con nuestras observaciones ya que encontramos concentraciones por encima de las reportadas en los controles de diferentes estudios. Estas concentraciones tanto al inicio donde el paciente se encuentra en franca manía y en la remisión inmediata presentando una tendencia al alza, aunque la diferencia de incremento no fue significativa,

es decir que nuestros pacientes apenas se encuentran en el proceso de regulación inflamatoria donde aún no alcanza el nivel máximo de IL 10 y el efecto de los mecanismos regulatorios para que veamos una disminución de citocinas inflamatorias.

En nuestras observaciones hubo una disminución de la concentración de IL-1 β posterior a la respuesta clínica a tratamiento, y un incremento de TNF alfa, mientras que las otras citocinas (IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, sIL-2 y del RsTNF-alfa) no tuvieron diferencias significativas antes y después. En el meta-análisis ^{44 y 46} se observaron valores significativamente altos de IL-1 β en pacientes bipolares eutímicos comparados con controles sanos, es decir que aunque pudiera existir una disminución gradual no llega a estar en niveles comparables con controles. En ese mismo metaanálisis las concentraciones de IL 2 no diferían en bipolares eutímicos comparados con los controles, por lo cual la respuesta de IL 2 sólo estaría presente en los eventos agudos, pero un componente de las alteraciones inmunológicas (proinflamatorias) estaría implicada la IL-1 β ⁴⁴.

En este mismo sentido se suman los hallazgos de Remlinger – Molenda et al, donde observaron diferencias de concentraciones de IL 6 en las diferentes fases de la enfermedad, por ejemplo, en pacientes con remisión inmediata de manía detectaron concentraciones mas altas de IL-6 que los pacientes con remisión sostenida⁷³. También se observó que con la remisión de la manía hubo correlaciones positivas entre IL-6 con IL-2, y entre IL-6 y la escala de calificación de manía de Young⁷³. En nuestro estudio no se pudo realizar esa correlación de IL 6 con IL-2 pero si se realizó un análisis de correlación entre las diferentes concentraciones de citocinas y con el puntaje inicial (manía) y final (respuesta a tratamiento) encontrando que solo la disminución de IL 8 correlaciona con la respuesta a tratamiento medida por la escala de Young, sin embargo como la diferencia en las concentraciones de IL 8 inicial y final no fue significativa se tendría que tomar a reserva la consideración de que IL 8 como un posible marcador de respuesta ya que el rol que se conoce de esta molécula es proinflamatoria y se ha relacionado con la adhesión de neutrófilos. Pareciera que IL-6 se encuentra durante los episodios agudos de la enfermedad y puede ser un bioquímico marcador de la intensidad de los síntomas maníacos durante los episodios agudos y la remisión inmediata.

El mecanismo por el cual contribuye a la inflamación y posteriormente a la regulación se basa en que el incremento de IL 6 con su receptor promoverá la proliferación celular, la diferenciación celular y los procesos inflamatorios pero a su vez contribuye a la diferenciación de astrocitos y a la expresión de neurotrofinas como el factor de crecimiento nervioso (NGF) entonces las concentraciones elevadas de IL-6 en la fase maníaca podría ser una respuesta compensatoria a la alteración de los niveles de neurotrofinas ya que a través de estimular las neurotrofinas contrarresta la cascada proinflamatoria. Por lo tanto, el complejo IL-6/sIL-6R podría tener un papel similar en los pacientes bipolares.⁷⁴

El incremento o la presencia de IL-4 e IL-10 puede representar una respuesta compensatoria al estado proinflamatorio en el trastorno bipolar, en conjunto con IL-1RA y el complejo IL-

6/sIL-6R podrían ser responsables de contrarrestar los efectos nocivos del estrés oxidativo y las citocinas proinflamatorias, sin embargo también se ha hipotetizado que la elevación de IL-4 e IL-10 en pacientes con BD también podría indicar una desregulación de las células T, que interviene en el mecanismo de estrés oxidativo y generación de neoepítomos lo que además puede jugar un papel en las respuestas autoinmunes en el trastorno bipolar⁷⁴.

El hallazgo sobre niveles elevados de IL-6 durante la fase de manía y en la remisión inmediata nos hacen pensar que el período de 8 semanas entre el episodio agudo y la aparición de la remisión puede ser demasiado corta para que se presente la normalización de estas citocinas, por lo tanto, el incremento de su concentración puede persistir en el período de remisión inicial.

Respecto a los niveles elevados de TNF- α y sTNFR1 observados en pacientes con trastorno bipolar en cualquiera de sus fases, reflejan la presencia de un estado proinflamatorio. sTNFR1 es un generador de estados proinflamatorios más confiable que TNF- α debido a su mayor estabilidad^{72 y 74}. Los niveles de TNF- α probablemente se vean afectados por la fase del trastorno bipolar, como lo demuestra una tendencia hacia valores más altos de TNF- α y sTNFR1 en pacientes con manía en comparación con individuos eutímicos como los observados en nuestro estudio. Los niveles elevados de TNF- α en pacientes con BD podrían reflejar una disfunción del eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal o resistencia a los esteroides de las células inmunitarias⁷⁴. Los metanálisis^{44, 46} y los estudios de casos y controles mostraron que los pacientes con trastorno bipolar en manía presentan un aumento niveles de IL-6, IL-10, TNF- α , sTNFR1, quimiocinas y sIL-2R en comparación no solo con controles sanos, pero también con pacientes con trastorno bipolar en eutimia. Estos hallazgos indican que el estado proinflamatorio en pacientes con BD aumenta fuertemente durante los episodios del estado de ánimo como es el caso en lo observado en nuestro estudio donde existe elevación tanto de TNF- α y sTNFR1.

En estudios de revisión sistemática se ha visto que las alteraciones de los niveles de citocinas en el trastorno bipolar pareciera que son contradictorias por los resultados de los estudios individuales, pues los pacientes muestran niveles tanto aumentados como disminuidos de determinadas citocinas, en cada fase de la enfermedad, sin embargo con los resultados de nuestra investigación y estudiando la fisiopatología de otros procesos inflamatorios y los hallazgos de los diferentes estudios podemos suponer que en realidad no son contradictorios si no que aportan evidencia de momentos distintos de la evolución de la respuesta inflamatoria y su autoregulación del paciente con trastorno bipolar.

Y aunque los estudios se han enfocado en demostrar un patrón característico o determinar un comportamiento de citocinas que nos permita predecir los episodios, diagnosticar o tratar la enfermedad estamos ante un proceso complejo que se adapta y autorregula en cada momento.

CONCLUSIONES

El Trastorno Bipolar es una enfermedad mental que, se relaciona con la mediación del Sistema Inmune. La evidencia disponible menciona un involucro importante en el sistema inmunológico, especialmente con las citocinas pro-inflamatorias, sin embargo, la heterogeneidad de los estudios y las diferentes condiciones clínicas en las que se realizan muestran diferencias entre los hallazgos cuando se investigan productos específicos de la inflamación. Sabemos que existen diferencias en la respuesta inmune en las diferentes fases del trastorno bipolar y que los niveles de algunas citocinas, como TNF- α e IL-6, tienden a normalizarse durante la fase eutímica, lo cual no significa que sea inmediatamente al momento de alcanzar la respuesta, mientras que los niveles de otras, como sIL-2R, permanecen anormales como lo que observamos en nuestro estudio. Así podríamos decir que el comportamiento de algunas citocinas pareciera que son un componente de estado (TNF- α y su receptor e IL-1 β), que otras citocinas participan en respuesta a un mecanismo desconocido, previo a los episodios o inmediatamente después de iniciado, (como IL-2, IL-6), otras citocinas surgirían para el control inflamatorio como sIL-2R o IL-10 y algunas pudieran modificarse con el tratamiento.

Con estos datos no es posible obtener un biomarcador de respuesta sin embargo contribuyen a la hipótesis de la enfermedad bipolar como una enfermedad crónica inflamatoria. Con ello podemos considerar que la presencia del incremento del sIL-2R podría ser un marcador de la actividad de linfocitos T y a la par informarnos de actividad inmunoreguladora, sobre IL-2. Sin embargo este estudio apoya lo que otros sugieren, que los episodios del estado de ánimo, en este caso la manía, juegan un rol de toxicidad y que no revierte tan rápido ante la respuesta clínica, que si bien existen mecanismos antiinflamatorios, el estado inflamatorio se sostiene. Así la respuesta clínica aun dista de ser una respuesta fisiopatológica por ello es posible que lo que estamos observando sea solo un afecto del comportamiento de las citocinas independiente de la respuesta a tratamiento.

En este estudio solo investigamos ciertas citocinas sin embargo otros componentes inflamatorios seguramente están implicados en la fisiopatología de la respuesta a tratamiento en pacientes con manía, como los macrófagos, linfocitos y sus productos. Nuestra intención de medir los receptores de algunas de estas citocinas era valorar no solo la concentración sino la activación de su receptor y la regulación o disminución de la propia respuesta.

Se requieren estudios con mayor número de sujetos, prospectivos, con mediciones secuenciales en las diferentes fases de la enfermedad y continuar el seguimiento hasta la remisión sostenida, no solo ante la respuesta clínica. Para determinar el efecto del

tratamiento se tendría que homogenizar el tratamiento o considerar muchos esquemas con suficiente población lo que podría ofrecer una imagen más clara del efecto del tratamiento sobre las citoquinas.

Se necesita el establecimiento de mejores estándares internacionales para la determinación de citocinas por parte de la OMS o de la National Institute for Biological Standards and Controls lo que permitiría avanzar en la unificación de unidades y valores entre los distintos kits de evaluación ya que aunque la sensibilidad para la medición de los productos de inflamación humana CBA es comparable a la convencional ELISA, aún existen diferencias debido a la complejidad y cinética de las citocinas ya que estas son una red compleja de interacciones que tendrá conexiones con diferentes tipos celulares, donde cada una de las interleucinas podría activar o desactivar su propia síntesis, la de sus receptores o la de otras moléculas inflamatorias o antiinflamatorias, esta compleja interacción hace difícil su implicación y traducción clínica a los observadores en un corto tiempo de estudio.

Limitaciones

Por varias razones, nuestros hallazgos deben interpretarse a la luz de algunas limitaciones. Primero, las alteraciones de citocinas en trastorno bipolar no necesariamente reflejan un proceso fisiopatológico primario y pueden ser secundarias a otras alteraciones previas. En segundo lugar, no pudimos dar cuenta de varios modificadores del efecto (índice de masa corporal y tabaquismo). En tercer lugar, incluimos pacientes con una historia no tan prolongada de trastorno bipolar a diferencia de la mayoría de los estudios que revisamos. En cuarto lugar, aunque se usa prácticamente la misma escala para medir manía y medir cuando no se encuentran en esta fase no es el mismo estudiarlos en respuesta, remisión, remisión sostenida y eutimia. Nosotros consideramos el concepto de respuesta a tratamiento, lo cual no significa que se encuentre en remisión o estrictamente en eutimia.

9. Plan de trabajo.

9.1 Selección y evaluación de casos.

- 1) De la población elegible se seleccionaron los pacientes que cumplan los criterios de elección.
- 2) Dado que se utilizaron en este estudio la Entrevista Semi-estructurada M.I.N.I. y la Escala de manía de Young se realizó estudio de concordancia a los médicos que intervinieron en la evaluación.
- 3) Posterior al diagnóstico por los psiquiatras del servicio de urgencias este se confirmó a través de la entrevista semiestructurada M.I.N.I. versión en español SCID-E.
- 4) A los casos índice seleccionados que no cumplieron con ninguno de los criterios de exclusión se les solicitó la firma del consentimiento informado a sus responsables legales.
- 5) Posteriormente se tomó una muestra de sangre al paciente la cual se procesó y analizó en el laboratorio de inmunología de la Facultad de medicina de la UASLP.
- 6) Se les dio el tratamiento estándar para el manejo del trastorno bipolar en fase de manía.
- 7) Cada semana se les realizó escala de Young para determinar respuesta al tratamiento.
- 8) Una vez que respondieron a tratamiento (disminución del 50% del puntaje en la escala de Young inicial o puntaje menor a 12 puntos en la escala de Young) se realizó consentimiento informado a los pacientes.
- 9) Posterior a consentimiento por pacientes se tomó muestra de sangre para medición de citocinas.
- 10) Se realizó la escala de Young una vez a la semana hasta la última toma de muestra.
- 11) Los Resultados de las pruebas realizadas se entregaron en el expediente de los pacientes, al médico tratante y a los familiares responsables del paciente
- 12) No se presentó algún evento adverso derivado de toma de muestra o durante la aplicación de las evaluaciones (aplicación de escalas) pero se tenía previsto en caso de que sucediera que se seguirá el protocolo de evento adverso que se encuentra dentro de los manuales operativos de la institución (ver anexos).
- 13) El seguimiento posterior de los pacientes se realizó siguiendo el protocolo de atención de la Clínica psiquiátrica según su manual de procedimiento, y la determinación de sus médicos tratantes ya que al no realizar ninguna intervención por parte de los investigadores no requirió mayor injerencia de los mismos en su tratamiento. Sin embargo, en el caso de que los familiares o pacientes tuvieran alguna inquietud en relación a los resultados, o implicación de los mismos, se les dejó la opción de acudir a explicación y consejería, lo cual se hizo constar en su expediente clínico para uso de la misma institución.
- 14) Posterior a la recuperación del paciente se le explicó el presente protocolo y se recabó su consentimiento para continuar dentro del estudio.

10. Cronograma.

Actividades	Febrero 2017	Marzo 2017	Enero 2018	Mayo 2019	Mayo 2020	Junio 2020	Agosto 2020	Octubre 2021	Diciembre 2021	Marzo 2021
Elaboración de protocolo Para FIIS	X									
Elaboración Protocolo MCIC		X	X	X						
Aprobación por el Comité de Ética		X								
Primera parte de Obtención de la muestra			X							
Segunda parte de Obtención de la muestra					Post Covid	X	X	X		
Análisis de primero resultados					X	X				
Obtención Total de la muestra							X	X	X	
Análisis de los resultados Totales								X	X	
Discusión y conclusiones									X	
Entrega de Resultados finales									X	X
Envió a revista										X

11. Análisis de factibilidad.

El actual proyecto contó con el financiamiento del FIIS (Fondo interinstitucional de Investigación en Salud) por un monto de \$ 100 mil pesos (\$80 000.00 otorgados por el fondo y \$20 mil como concurrente). El gasto generado excedente a este presupuesto será absorbido por los investigadores principales, dicho monto se usó para la compra de los kits BD CBA con los cuales se medirán los niveles de citocinas en sangre (ver anexos). El resto de los gastos serán sufragados por los investigadores.

Se cuenta con el apoyo del laboratorio de inmunología de la facultad de medicina para el procesamiento de la muestra y los resultados de citocinas.

Respecto a la factibilidad por número de sujetos con la condición patológica, se conoce que en la clínica psiquiátrica se ingresan en promedio de 2 pacientes a la semana con diagnóstico de trastorno bipolar en fase de manía, lo cual representa 104 pacientes por año por lo que consideramos que la muestra que falta podría ser completada en 3 meses posteriores a reiniciar recolección de muestras.

12. Aspectos éticos.

La presente investigación presenta riesgo mínimo para los participantes por la toma de muestra, sin embargo, no representa mayor riesgo que al que están expuestos los pacientes habitualmente ya que dentro de los procedimientos de la institución a todos los pacientes se les realiza toma de muestra sanguínea para laboratorio.

El conocimiento adquirido, ayudará a entender mejor las condiciones relacionadas con la enfermedad. Los datos serán manejados en forma confidencial para proteger la privacidad de los participantes y en todo momento se seguirán los lineamientos que marca la norma de atención para el funcionamiento de las unidades médico-hospitalarias de atención. Para dar cumplimiento a las recomendaciones de la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, en el Reglamento de la Ley en Materia de Investigación para la Salud, Capítulo único, Título segundo, Artículos 13, 14, 16, 17, 20, 21 y 22. Así mismo este protocolo se sometió a proceso de evaluación del Comité Estatal de Ética en Investigación bajo el nombre de: **Asociación entre el nivel sérico de citocinas y funciones ejecutivas en pacientes con trastorno bipolar en fase de manía y en remisión**, obteniendo la autorización y número de registro **SLP/003-2017**, con fecha de despacho del 14 de marzo del 2017.

Para realizar el estudio se solicitará el consentimiento informado a los responsables legales de los participantes y una vez que se encuentren fuera del cuadro de manía se re consentirá a los participantes. No aparecerán datos que permitan identificar a los sujetos en ninguna publicación que se derive de este estudio.

Nota: el estudio fue aprobado bajo un nombre distinto dado que la aprobación del mismo fue anterior a la modificación en los seminarios y recibió apoyo del Fondo Inter Institucional en Salud también bajo ese nombre.

12.1 Procedimiento para obtención de consentimiento informado.

Una vez que se haya identificado a un paciente que sea ingresado en la institución con diagnóstico de trastorno bipolar en fase de manía y posterior a la asignación de una cama de urgencias o de hospitalización, se identificara al familiar responsable legal del paciente y nos aseguraremos que haya hablado con el médico encargado respecto a la condición clínica de su familiar, nos dirigiremos al familiar para solicitar el consentimiento para la participación en el presente proyecto. Esta información se realizará en el consultorio médico del área de urgencias, de sala o en las oficinas de enseñanza de la institución, dependiendo de las condiciones adecuadas de dichos lugares. Se le informará el título de la investigación, los objetivos del mismo, riesgos y beneficios de participar en el estudio.

Así mismo se le explicará que la participación es voluntaria y que la decisión de participar o no interferirá con la atención brindada habitualmente en la institución. Así mismo se le dará a leer la carta de consentimiento informado, se explicará el manejo de los datos obtenidos y que toda información se manejará de manera confidencial, se le dará el tiempo necesario

para clarificar las dudas que se generen y se le entregarán los datos de los investigadores principales, independientemente de su decisión de que su paciente participe o no.

12.2 Mecanismo para detección y reporte de evento adverso.

El presente estudio es un estudio observacional y no se realizó ninguna intervención terapéutica por parte de los investigadores, sin embargo y atendiendo a la evaluación de los pacientes una vez que ingresó el paciente al estudio se registraron sus signos vitales en cada una de las valoraciones y se buscaron intencionadamente síntomas adversos asociados a la medicación que estaban tomando. En caso de presentar algún evento adverso se notificará al área de calidad de la institución y al médico tratante, mediante el formato de reporte de evento adverso, propio de la unidad para que se sigan las políticas de operación de la institución y el juicio del médico tratante

12.3 Conflictos de Interés.

Durante el inicio del presente proyecto y al día 19 de marzo del 2019, yo, el responsable del proyecto de investigación ocupé el cargo de Jefe de División de la Clínica Psiquiátrica “Dr. Everardo Neumann Peña”, donde se realizó el proyecto. Declaro que en ningún momento participé en la evaluación y decisión del Comité Estatal de Ética de la Secretaría de Salud de San Luis Potosí con respecto a este proyecto.

Además, declaro que soy conferencista para el laboratorio Pfizer®, y Psicofarma pero esto no tiene injerencia con el tratamiento a utilizar en el presente proyecto.

13. Referencias.

1. Jonas B, Brody D, Roper M. Prevalence Of Mood Disorders in a National Sample of Young American Adults. *Soc. Psychiatry Epidemiol.* 2003; 38: 618 – 624
2. Judd L, Akiskal H. The prevalence and disability of bipolar spectrum disorder in the US population: Reanalysis of the EGA database taking into account subthreshold cases. *J. affect Disirder* 2003; 73: 123 – 131
3. Akiskal H. The prevalent Clínica Spectrum of Bipolar Disorders: Beyond DSM IV. *J. Clin Psychopharmacol* 1996; 16: 4S-14S
4. Dunner D, Tay L. Diagnostic Reliability of the history of hipomanía in bipolar II patients and patients with major depression. *Compr Psychiatry* 1993; 34: 303-307
5. Medina, Ma. Elena, Borges, Guilherme, Lara, Carmen, Benjet, Corina, Blanco, Jerónimo, Fleiz, Clara, Villatoro, Jorge, Rojas, Estela, Zambrano, Joaquín, Casanova, Leticia, Aguilar, Sergio. (2003). Prevalencia de trastornos mentales y uso de servicios: Resultados de la Encuesta Nacional de Epidemiología Psiquiátrica en México . *Salud Mental* . Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=58242601>> ISSN 0185-332
6. Clínica Psiquiátrica Dr. Everardo Neumann Peña. Informe de actividades Hospitalarias y consulta Externa. 2018
7. American Psychiatric Association (2014). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.)*. American Association Publishing. Washington, DC; 71 – 102
8. *Concenso Internacional de Enfermedades*. Decima edición.
9. Young RC, Biggs JT, Ziegler VE, Meyer DA. Young Manía Rating Scale In: *Handbook of Psychiatric Measures* Washington, DC: American Psychiatric Association; 2000: 540-542.
10. N Yatham, L., H Kennedy, S., V Parikh, S., Schaffer, A., J Bond, D., N Frey, B., Sharma, V., I Goldstein, B., Rej, S., Beaulieu, S., Alda, M., MacQueen, G., V Milev, R., Ravindran, A., O'Donovan, C., McIntosh, D., W Lam, R., Vazquez, G., Kapczinski, F., S McIntyre, R., Kozicky, J., Kanba, S., Lafer, B., Suppes, T., R Calabrese, J., Vieta, E., Malhi, G., M Post, R. and Berk, M. (2018). *Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International Society for Bipolar Disorders (ISBD) 2018 guidelines for the management of patients with bipolar disorder*. 1st ed. Canada: Bipolar Disorders, pp.97-170
11. *Guía de Práctica Clínica, Diagnóstico y Tratamiento del Trastorno Bipolar*, México: secretaria de Salud; 2009
12. Lukasiewicz M, Gerard S, Besnard A, et al. Young Mania Rating Scale: How To Interpret the Numbers? Determination of a severity threshold and of the minimal clinically significant difference in the emblem Cohort. *Int J. Methods Psychiatr Res.* 2013 (1); 46-58.

13. World Health Organization, 2002. The World Health Report 2002: Reducing Risks, Promoting Healthy Life. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
14. Young, A.H., Rigney, U., Shaw S., Emma C., Thompson J.M., 2011. Annual cost of managing bipolar disorder to the UK health care system. *The Journal of Affective Disorders* 133,450–456.
15. OMS, 2013. Investing in Mental Health: Evidence for Action http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/index2.html
16. Gordon Parker n, Stacey McCraw, Dusan Hadzi-Pavlovic, Kathryn Fletcher Costs of the principal mood disorders: A study of comparative direct and indirect costs incurred by those with bipolar I, bipolar II and unipolar disorders School of Psychiatry, University of New South Wales, and Black Dog Institute, Sydney, Randwick 2031, Australia *Journal of Affective Disorders* 149 (2013) 46–55
17. Chang CK, Hayes RD, Perera G, Broadbent MT, Fernandes AC, Lee WE, et al. Life expectancy at birth for people with serious mental illness and other major disorders from a secondary mental health care case register in London. *PLoS One* (2011) 6: e19590. doi: 10.1371/journal.pone.0019590
18. Laursen, T.M., 2011. Life expectancy among persons with schizophrenia or bipolar affective disorder. *Schizophr. Res.* 131(1),101–104.
19. Crump, C., Sundquist, K., Winkleby, M.A., Sundquist, J., 2013. Comorbidities and mortality in bipolar disorder: a Swedish national cohort study. *JAMA Psychiatry* 70(9), 931–939
20. Macneil CA, Hallam K, Conus P, Henry L, Kader L, Berk M. Are we missing opportunities for early intervention in bipolar disorder? *Expert Rev Neurothe* 2012; 12: 5–7.
21. McIntyre RS, Wagner KD. Performance improvement CME: long-term treatment of bipolar disorder. *J Clin Psychiatry* 2011; 72
22. Ketter TA. Strategies for the early recognition of bipolar disorder. *J Clin Psychiatry* 2011; 72: e22.
23. McIntyre RS, Konarski JZ, Yatham LN. Comorbidity in bipolar disorder: a framework for rational treatment selection. *Hum Psychopharmacol*, 2004. 19:369–86. doi:10.1002/hup.612
24. Craig, T.J., Ye, Q., Bromet, E.J., 2006. Mortality among first-admission patients with psychosis. *Compr. Psychiatry* 47(4),246–251
25. Clara Reece Medici, Poul Videbech, Lea Norgreen Gustafsson, Povl Munk Jørgensen Aarhus. Mortality and secular trend in the incidence of bipolar disorder University Hospital, Risskov, Denmark Psychiatric Center Glostrup, Glostrup, Denmark *Journal of Affective Disorders* 183(2015)39–44
26. Hayes, J. F. J. Miles, K. Walters, M. King, D. P. J. Osborn A systematic review and meta-analysis of premature mortality in bipolar affective disorder *Acta Psychiatr Scand* 2015: 131: 417–425 DOI: 10.1111/acps.12408

27. Holma, K.M., Haukka, J., Suominen, K., Valtonen, H.M., Mantere, O., Melartin, T.K., Sokero, T.P., Oquendo, M.A., Isometsä, E.T., 2014. Differences in incidence of suicide attempts between bipolar disorders and major depressive disorder. *Bipolar Disord.* 16, 652–661.
28. Sayana P, DElevati Colpo G, R. Simoes L, Vayalanellore Giridharan V, Luicio Teixeira A, Quevedo J et al. A systematic review of evidence for the role of inflammatory biomarkers in bipolar patients. *Journal of Psychiatric REsearch.* 2019;(1):160-182.
29. Fries, G.R., Walsch-Bass, C., Bauer, M.E., Teixeira, A.L., 2019. Revisiting inflammation in bipolar disorder. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 177, 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.12.006>.
30. Smith, R. S. (1992) A comprehensive macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia. *Med. Hypotheses* 39, 248–257
31. Wouter Beumer, et al The immune theory of psychiatric diseases: a key role for activated microglia and circulating monocytes. Volume 92, November 2012 *Journal of Leukocyte Biology*
32. Drexhage, R. C., van der Heul-Nieuwenhuijsen, L., Padmos, R. C., van Beveren, N., Cohen, D., Versnel, M. A., Nolen, W. A., Drexhage, H. A. (2010) Inflammatory gene expression in monocytes of patients with schizophrenia: overlap and difference with bipolar disorder. A study in naturalistically treated patients. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 13, 1369–1381.
33. Quinones MP, Kaddurah-Daouk R. Metabolomics tools for identifying biomarkers for neuropsychiatric diseases. *Neurobiol Dis* 2009; 35: 165–176.
34. Padmos, R. C., Hillegers, M. H., Knijff, E. M., Vonk, R., Bouvy, A., Staal, F. J., de Ridder, D., Kupka, R. W., Nolen, W. A., Drexhage, H. A. (2008) A discriminating messenger RNA signature for bipolar disorder formed by an aberrant expression of inflammatory genes in monocytes. *Arch. Gen. Psychiatry* 65, 395–407.
35. Grande I, Magalhães PV, Chendo I, Stertz L, Panizutti B, Colpo GD, Rosa AR, Gama CS, Kapczinski F, Vieta E. Staging bipolar disorder: clinical, biochemical, and functional correlates *Acta Psychiatr Scand* 2014; 129: 437–444
36. Bulut M, Çatı S, Güneş M, Kaya M, Kaplan İ, Özkan M. Evaluation of serum inflammatory markers in treatment-resistant manic patients and adequate responder manic patients. *Psychiatry Research.* 2019; 272:73-79.
37. V. Chistyakov D, A. Astakhova A, G. Sergeeva M. Resolution of inflammation and mood disorders. 1st ed. *Experimental and Molecular Pathology*; 2019.
38. Ayako Shioya, Yuko Saito, Kunimasa Arima, Yukio Kakuta, Takefumi Yuzuriha, Noriko Tanaka, Shigeo Murayama and Akira Tamaoka Neurodegenerative changes in patients with clinical history of bipolar disorders *Neuropathology* 2015; 35, 245–253. doi:10.1111/neup.12191
39. Vladimir Maletic and Charles Raison. Integrated neurobiology of bipolar disorder Department of Neuropsychiatry and Behavioral Sciences,

University of South Carolina School of Medicine, Columbia, SC, USA
Department of Psychiatry, University of Arizona, Tucson, AZ, USA

40. Haruhiko Sugino, Takashi Futamura, Yasuhide Mitsumoto, Kenji Maeda, Yoshinori Marunaka. Atypical antipsychotics suppress production of proinflammatory cytokines and up-regulate interleukin-10 in lipopolysaccharide-treated mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 33 (2009) 303–307
41. Munkholm K; Eikop P; Vedel L; Vinberg M. Elevated levels of IL – 6 and IL-18 in manic and hypomanic states in rapid cycling bipolar disorder patients. *Brain, Behavior, and Immunity*, 43 (2015) 205 – 213.
42. Haozhe Li, Wu Hong, Chen Zhang, Zhiguo Wu; Zuowei Wang, Chenmei Yuan, Zezhi Li, Jia Huang, Zhiguang Lin, Yiru Fang. IL-23 and TGF-B1 levels as potential predictive biomarkers in treatment of bipolar I disorder with acute manic episode. *Journal Affective Disorders*. 174 (2015) 361 – 366.
43. Ya-Mei Bai, Tung-Ping Su, Shih-Jen Tsai, Wen-Fei Chiou, Cheng-Ta Li, Pei-Chi Tu, Mu-Hong Chen, Comparison of inflammatory cytokine levels among type I/type II and manic / hypomanic / euthymic / depressive states of bipolar disorder.
44. Munkholm, K., Brauner, J.V., et al., 2013. Cytokines in bipolar disorder vs. healthy control subjects: a systematic review and meta analysis. *J. Psychiatr. Res.* 47 (9), 1119–1133.
45. Munkholm, K., Vinberg, M., et al., 2013. Cytokines in bipolar disorder: a systematic review and meta-analysis. *J. Affective Disord.* 144(1–2), 16–27
46. Modabbernia, A., Taslimi, S., et al., 2013 .Cytokine alterations in bipolar disorder: a meta-analysis of 30 studies. *Biol. Psychiatry* 74 (1), 15–25.
47. Giridharan, V.V., Sayana, P., Pinjari, O.F., Ahmad, N., da Rosa, M.I., Quevedo, J., Barichello, T., 2019. Postmortem evidence of brain inflammatory markers in bipolar disorder: a systematic review. *Mol. Psychiatry* 25, 94–113. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0448-7>.
48. Zhiang Niu, Lu Yang, Xiaohui Wu, Yuncheng Zhu, Jun Chen, Yiru Fang.. The Relationship Between Neuroimmunity and Bipolar Disorder: Mechanism and Translational Application. *Neurosci. Bull.* August, 2019, 35(4):595–607 <https://doi.org/10.1007/s12264-019-00403-7>.
49. Błażej Misiaka, Francesco Bartolucci, Giuseppe Carrà, Monika Małeckie, Jerzy Samochowiec, Konrad Jarosz, Anna Banikh, Bartłomiej Stańczykiewicz. Chemokine alterations in bipolar disorder: A systematic review and metaanalysis. *Brain, Behavior, and Immunity*, <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.04.013>
50. Jakobsson, J., Bjerke, M., Sahebi, S., Isgren, A., Ekman, C.J., Sellgren, C., Olsson, B., Zetterberg, H., Blennow, K., Pålsson, E., Landén, M., 2015. Monocyte and microglial activation in patients with mood-stabilized bipolar disorder. *J. Psychiatry Neurosci.* 40, 250–258. <https://doi.org/10.1503/jpn.140183>.

51. Wang,T.Y., Lee,S.Y., Chen,S.L.,Chung,Y.L., Li,C.L.,Chang,Y.H., Wang,L.J.,Chen,P.S., Chen, S.H., Chu, C.H., Huang, S.Y., Tzeng, N.S., Hsieh, T.H., Chiu, Y.C., Lee, I.H., Chen, K.C., Yang, Y.K., Hong, J.S., Lu, R.B., 2016. The differential levels of inflammatory cytokines and bdnf among bipolar spectrum disorders. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 19. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw012>.
52. Vesile Uyanik, Cengiz Tuglu, Yasemin Gorgulu, Hakan Kunduracilar, Mehmet Sevki Uyanik. Assessment of cytokine levels and hs-CRP in bipolar I disorder before and after treatment. *Psychiatry Research* <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2015.05.078>
53. Trisha Chakrabarty & Lakshmi N Yatham (2019): Objective and biological markers in bipolar spectrum presentations, *Expert Review of Neurotherapeutics*, DOI: 10.1080/14737175.2019.1580145
54. Peduzzi P, Concato J, Kemper E, Holford TR, Feinstein a R. A simulation study of the number of events per variable in logistic regression analysis. *J Clin Epidemiol.* 1996 Dec;49(12):1373–9
55. Colpo G.D., Leboyer M., Dantzer R., Trivedi M.H., Teixeira A.L. Immune-based strategies for mood disorders: facts and challenges. *Expert Rev Neurother.* 2019; 18(2): 139-152. Doi:10.1080/14737175.2018.1407242.
56. Civil-Arslan F., Tiriyaqi A, Özkorumak E., Aral G., Sarioglu O., Ince I., Çankaya S., Alver A. The Relationship of Interleukin-18 and Interleukin-6 Levels with Cognitive Functions in Bipolar Disorder. *Turkish Journal of Psychiatry.* 2017. Doi.10.5080/u17086
57. Sigitova E;, Fišar Z;. Hroudová J;, Cikánková T;, Raboch J. Biological hypotheses and biomarkers of bipolar disorder. *Psychiatry and Clinical Neurosciences.* 2017; 71:77-103. Doi:10.1111/pcn.12476.
58. Rosenblat J.D., McIntyre R.S. Bipolar Disorder and immune Dysfunction: Epidemiological Findings, Proposed Pathophysiology and Clinical Implications. *Brain Sci.* 2017, 7, 144. Doi:10.3390/brainsci7110144.
59. Barbosa I.G., Bauer M.E., Machado-Vieira R., Teixeira A.L. Cytokines in Bipolar Disorder: Paving the Way for Neuroprogression. *Neural Plasticity.* 2014; 1-9. <http://dx.xoi.org/10.1155/2014/360481>.
60. Kim H.K., Chen W., Andrezza A.C. The Potential Role of the NLRP3 Inflammasome as a Link between Mitochondrial Complex I Dysfunction and Inflammation in Bipolar Disorder. *Neural Plasticity.* 2015; 1-10. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/408136>.
61. Altamura A.C., Buoli M., Pozzoli S. Role of immunological factors in the pathophysiology and diagnosis of bipolar disorder: Comparison with Schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences.* 2014; 68: 21-36. Doi:10.111/pcn.12089.
62. Igue R., Polvin SS., Bah R. et al. Soluble interleukin-2 receptor levels correlated with positive symptoms during quetiapine treatment in schizophrenia-spectrum disorders. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2011; 35: 1695-1698.

63. Jain A, Mitra P. Bipolar Affective Disorder. In Treasure Island (FL); 2021.
64. Solomon DA, Leon AC, Coryell WH, Endicott J, Li C, Fiedorowicz JG, et al. Longitudinal course of bipolar I disorder: duration of mood episodes. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2010 Apr;67(4):339–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20368510>
65. Judd LL, Schettler PJ, Akiskal HS, Maser J, Coryell W, Solomon D, et al. Long-term symptomatic status of bipolar I vs. bipolar II disorders. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2003 Jun;6(2):127–37.
66. Dervic K, Garcia-Amador M, Sudol K, Freed P, Brent DA, Mann JJ, et al. Bipolar I and II versus unipolar depression: clinical differences and impulsivity/aggression traits. *Eur Psychiatry*. 2015 Jan;30(1):106–13.
67. Chouaib S, Chatenoub L, Klatzmann D, Fradelizi D. The mechanisms of inhibition of human IL-2 production. *J Immunol*. 1984; 132: 1851-1857.
68. Abbas K, Litchman A, Pober J. *Inmunología Celular y Molecular*. 4ta. ed. Madrid: Mc Graw Hill Interamericana; 2002. pp. 263-2.
69. Baxevanis C, Papilas K, Dedoussis G, Pavlis T, Papamichail M. Abnormal cytokine serum levels correlate with impaired cellular immune responses after surgery. *Clin Immunol Immunopathol*. 1994; 71: 82-88.
70. Chouaib S, Chatenoub L, Klatzmann D, Fradelizi D. The mechanisms of inhibition of human IL-2 production. *J Immunol*. 1984; 132: 1851-1857.
71. Miller B.J. Buckley P. Seabolt W. Mellor A. Kirkpatrick B. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. *Biol Psychiatry*. 2011; 70: 663-671.
72. Drexhage R.C. Hoogenboezem T.H. Versnel M.A. Berghout A. Nolen W.A. Drexhage H.A. The activation of monocyte and T cell networks in patients with bipolar disorder. *Brain Behav Immun*. 2011; 25: 1206-1213.
73. Agnieszka Remlinger-Molenda, Pawel Wojciak, Michal Michalak, Jacek Karczewski, Janusz K. Rybakowski; Selected Cytokine Profiles during Remission in Bipolar Patients. *Neuropsychobiology* 2012;66:193–198 DOI: 10.1159/000339949
74. Liu HC, Yang YY, Chou YM, Chen KP, Shen WW, Leu SJ. Immunologic variables in acute mania of bipolar disorder. *J Neuroimmunol*. 2004 May;150(1-2):116-22. doi: 10.1016/j.jneuroim.2004.01.006. PMID: 15081255
75. Barr, D.B., Barr, J.R., Driskell, W.J., Hill, R.H., Ashley, D.L., Needham, L.L., et al. (1999). Strategies for biological monitoring of exposure for contemporary-use pesticides. *Toxicol Ind Health*, 15(1–2), 168–179



Anexo 1 Consentimiento informado

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO
VIGENTE**

No. FOLIO _____

**“ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL SÉRICO DE CITOCINAS Y FUNCIONES EJECUTIVAS EN
PACIENTES CON TRASTORNO BIPOLAR EN FASE DE MANIA Y EN REMISION”**

Fecha: _____

Nombre del entrevistador: _____

Nombre del paciente: _____ Edad: _____

A Usted se le está invitando a que su familiar participe en un estudio de investigación clínica. Antes de decidir si desea que participe o no, debe conocer y comprender la siguiente información. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con libertad de preguntar cualquier duda al respecto para ayudar a comprender mejor este documento.

Una vez que haya comprendido el estudio y si Usted desea que su familiar participe, entonces se le pedirá que firme esta carta de consentimiento informado, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

Justificación. El trastorno bipolar es un problema de salud pública dado que cerca de 2 de cada 100 personas la presentan y se asocia con otras enfermedades, aumento en muerte asociada a la enfermedad, altos costos y menor calidad de vida para los pacientes y sus cuidadores.

Hay evidencia que sugiere que parte de la explicación de las complicaciones y mortalidad sea por una alteración en el sistema inmunológico, estas alteraciones pueden comprender sustancias con los nombres siguientes: IL 1beta, IL 2, IL 6, IL 8, IL 10, IL 12, IL 23, TNF alfa, Receptor soluble de IL 2 y del Receptor soluble de TNF, los cuales se encuentran circulando en sangre. Sin embargo se desconoce si estas alteraciones se relacionan con alguna alteración en funciones mentales que llamamos cognitivas (calculos, memoria, velocidad de respuesta, atención entre otras) y desconocemos si estas alteraciones se corrigen con el tratamiento, lo que podría contribuir a disminución del riesgo de las complicaciones físicas como mentales.

Objetivo del estudio. El presente estudio tiene dos objetivos principales, uno es determinar si existen diferencias en la concentración en sangre de estas sustancias (IL 1beta, IL 2, IL 6, IL 8, IL 12, IL 23, TNF alfa, Receptor soluble de IL 2 y del Receptor soluble de TNF) en pacientes con trastorno bipolar en fase de manía, y después de la respuesta al tratamiento y el segundo objetivo es determinar si existe asociación entre la concentración en sangre de estas sustancias (IL 1beta, IL 2, IL 6, IL 8, IL 10, IL 12, IL 23, TNF alfa, Receptor soluble de IL 2 y del Receptor soluble de TNF) con el puntaje que obtienen en las pruebas psicológicas que miden las funciones mentales, antes mencionadas, en pacientes con trastorno bipolar, al inicio del tratamiento y después de la respuesta al mismo.

Procedimiento del estudio. El estudio consiste en la colecta de 2 muestras de sangre, una al inicio (en las primeras 48 hrs) y una al presentar respuesta (15 mL de sangre en total), con las cuales se medirán las concentraciones de estas sustancias, además de la aplicación de unas pruebas psicológicas que se hacen a través de una computadora en las mismas fechas. Dicha evaluación durara aproximadamente 30 minutos y en todo momento contara con el apoyo de personal que se encuentra realizando este estudio.

Si su familiar cumple los criterios de selección y decide que participe en el estudio se le proporcionarán las indicaciones precisas del mismo. Este estudio presenta riesgo mínimo para su paciente dado que a todos los pacientes que ingresan también se les toma una muestra de sangre como parte de la evaluación diagnóstica propia de la clínica psiquiátrica.

Características del voluntario. Si su familiar tiene entre 18 a 55 años e ingresó a la clínica Psiquiátrica con diagnóstico de Trastorno Bipolar en Fase de manía, puede participar en el estudio.

Sin embargo, si su familiar presenta al menos una de las siguientes características abajo enlistadas no podrá ser considerado para esta investigación.

- Enfermedad autoinmune (Lupus, Artritis, Fibromialgia, etc)
- Enfermedad Crónica degenerativa (Diabetes, Hipertensión etc)
- Estar embarazada.
- Tener otra enfermedad neurológica o mental

Su decisión de participar en este estudio es voluntaria, puede retirar a su familiar en el momento que así lo deseé, no tiene costo para Ustedes. La entrega de resultados será de forma personalizada. No recibirá pago por su participación, en el transcurso del estudio Usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable, incluso posterior a la terminación de este estudio usted se puede contactar con el responsable de la investigación para aclarar dudas o recibir consejería en relación a los resultados obtenidos. La información obtenida en este estudio será mantenida con estricta confidencialidad.



Yo, _____, responsable legal del paciente _____ de _____ años de edad, confirmo que he leído, me han explicado la hoja de información del estudio anterior y que he tenido la oportunidad de hacer preguntas y me las han solucionado, además, tengo conocimiento de que este estudio no representa un daño a la salud de mi paciente y que puedo retirar mi consentimiento de participación en el momento que yo deseé, sin otorgar ninguna explicación y sin que el cuidado médico o derechos legales sean afectados.

Estoy de acuerdo con la recopilación, procesamiento, reporte y transferencia de datos obtenidos durante este estudio. Estos datos sólo podrán ser utilizados para esta investigación, si el investigador responsable necesitara esta información para otros estudios, me deberá pedir una nueva autorización.

Por lo anterior, acepto participar voluntariamente en la realización del proyecto: "ASOCIACIÓN ENTRE EL NIVEL SÉRICO DE CITOCINAS Y FUNCIONES EJECUTIVAS EN PACIENTES CON TRASTORNO BIPOLAR EN FASE DE MANIA Y EN REMISION" así mismo se me ha proporcionado el teléfono del investigador responsable, Dr. Luis Fernando Guerrero Herrera al (044) 4442 033 666 para cualquier asunto relacionado con este proyecto.

San Luis Potosí, S. L. P., a _____ de _____ del 20__

Firma del responsable legal

Testigo 1

Firma

Testigo 2

Firma

Esta parte debe ser completada por el investigador (o su representante):

He explicado al Sr (a) _____ la naturaleza y los propósitos del estudio; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda de su participación. Acepto que he leído y conozco la normatividad

vigente (Ley General de Salud 2014 y NOM-012-SSA3-2012), correspondiente para realizar estudios en seres humanos y me apego a ella.

Nombre del investigador

Firma

Anexo 2 Criterios de Diagnóstico.

Según el DSM 5 para realizar el diagnóstico de trastorno bipolar I, es necesario que se cumplan los criterios siguientes:

Episodio maníaco.

A. Un período bien definido de estado de ánimo anormalmente y persistentemente elevado, expansivo o irritable, y un aumento anormal y persistente de la actividad o la energía dirigida a un objetivo, que dura como mínimo una semana y está presente la mayor parte del día, casi todos los días (o cualquier duración si se necesita hospitalización).

B. Durante el período de alteración del estado de ánimo y aumento de la energía o actividad, existen tres (o más) de los síntomas siguientes (cuatro si el estado de ánimo es sólo irritable) en un grado significativo y representan un cambio notorio del comportamiento habitual:

1. Aumento de la autoestima o sentimiento de grandeza.
2. Disminución de la necesidad de dormir (p. ej., se siente descansado después de sólo tres horas de sueño).
3. Más hablador de lo habitual o presión para mantener la conversación.
4. Fuga de ideas o experiencia subjetiva de que los pensamientos van a gran velocidad.
5. Facilidad de distracción (es decir, la atención cambia demasiado fácilmente a estímulos externos poco importantes o irrelevantes), según se informa o se observa.
6. Aumento de la actividad dirigida a un objetivo (social, en el trabajo o la escuela, o sexual) o agitación psicomotora (es decir, actividad sin ningún propósito no dirigida a un objetivo).
7. Participación excesiva en actividades que tienen muchas posibilidades de consecuencias dolorosas (p. ej., dedicarse de forma desenfrenada a compras, juergas, indiscreciones sexuales o inversiones de dinero imprudentes).

C. La alteración del estado del ánimo es suficientemente grave para causar un deterioro importante en el funcionamiento social o laboral, para necesitar hospitalización con el fin de evitar el daño a sí mismo o a otros, o porque existen características psicóticas.

D. El episodio no se puede atribuir a los efectos fisiológicos de una sustancia (p. ej., una droga, un medicamento, otro tratamiento) o a otra afección médica.

Nota: Un episodio maníaco completo que aparece durante el tratamiento antidepresivo (p. ej., medicación, terapia electroconvulsiva) pero persiste en un grado totalmente sindrómico más allá del efecto fisiológico de ese tratamiento es prueba suficiente de un episodio maníaco y, en consecuencia, un diagnóstico de

Nota: Los Criterios A–D constituyen un episodio maníaco. Se necesita al menos un episodio maníaco a lo largo de la vida para el diagnóstico de trastorno bipolar I.

Episodio hipomaníaco.

A. Un período bien definido de estado de ánimo anormalmente y persistentemente elevado, expansivo o irritable, y un aumento anormal y persistente de la actividad o la energía, que dura como mínimo cuatro días consecutivos y está presente la mayor parte del día, casi todos los días.

B. Durante el período de alteración del estado de ánimo y aumento de la energía y actividad, han persistido tres (o más) de los síntomas siguientes (cuatro si el estado de ánimo es sólo irritable), representan un cambio notorio del comportamiento habitual y han estado presentes en un grado significativo:

1. Aumento de la autoestima o sentimiento de grandeza.
2. Disminución de la necesidad de dormir (p. ej., se siente descansado después de tres horas de sueño).
3. Más hablador de lo habitual o presión para mantener la conversación.
4. Fuga de ideas o experiencia subjetiva de que los pensamientos van a gran velocidad.
5. Facilidad de distracción (es decir, la atención cambia demasiado fácilmente a estímulos externos poco importantes o irrelevantes), según se informa o se observa.
6. Aumento de la actividad dirigida a un objetivo (social, en el trabajo o la escuela, o sexual) o agitación psicomotora.
7. Participación excesiva en actividades que tienen muchas posibilidades de consecuencias dolorosas (p. ej., dedicarse de forma desenfrenada a compras, juergas, indiscreciones sexuales o inversiones de dinero imprudentes).

C. El episodio se asocia a un cambio inequívoco del funcionamiento que no es característico del individuo cuando no presenta síntomas.

D. La alteración del estado de ánimo y el cambio en el funcionamiento son observables por parte de otras personas.

E. El episodio no es suficientemente grave para causar una alteración importante del funcionamiento social o laboral, o necesitar hospitalización. Si existen características psicóticas, el episodio es, por definición, maníaco.

F. El episodio no se puede atribuir a los efectos fisiológicos de una sustancia (p. ej., una droga, un medicamento, otro tratamiento).

Nota: Un episodio hipomaníaco completo que aparece durante el tratamiento antidepresivo (p. ej., medicación, terapia electroconvulsiva) pero persiste en un grado totalmente sindrómico más allá del efecto fisiológico de ese tratamiento es prueba suficiente de un episodio hipomaníaco. Sin embargo, se recomienda precaución porque uno o dos síntomas (particularmente el aumento de la irritabilidad, nerviosismo o agitación después del uso de antidepresivos) no se consideran suficientes para el diagnóstico de un episodio hipomaníaco, ni indica necesariamente una diátesis bipolar.

Nota: Los criterios A–F constituyen un episodio hipomaníaco. Los episodios hipomaníacos son frecuentes en el trastorno bipolar I pero no son necesarios para el diagnóstico de trastorno bipolar I.

Episodio de depresión mayor.

A. Cinco (o más) de los síntomas siguientes han estado presentes durante el mismo período de dos semanas y representan un cambio del funcionamiento anterior; al menos uno de los síntomas es (1) estado de ánimo deprimido o (2) pérdida de interés o de placer.

Nota: No incluye síntomas que se puedan atribuir claramente a otra afección médica

1. Estado de ánimo deprimido la mayor parte del día, casi todos los días, según se desprende de la información subjetiva (p. ej., se siente triste, vacío o sin esperanza) o de la por parte de otras personas (p. ej., se le ve lloroso). (Nota: En niños y adolescentes, el estado de ánimo puede ser irritable.)

2. Disminución importante del interés o el placer por todas o casi todas las actividades la mayor parte del día, casi todos los días (como se desprende de la información subjetiva o de la observación).

3. Pérdida importante de peso sin hacer dieta o aumento de peso (p. ej., modificación de más del 5% del peso corporal en un mes) o disminución o aumento del apetito casi todos los días. (Nota: En los niños, considerar el fracaso en el aumento del peso esperado.)

4. Insomnio o hipersomnia casi todos los días.

5. Agitación o retraso psicomotor casi todos los días (observable por parte de otros; no simplemente la sensación subjetiva de inquietud o enlentecimiento).

6. Fatiga o pérdida de la energía casi todos los días.

7. Sentimientos de inutilidad o de culpabilidad excesiva o inapropiada (que puede ser delirante) casi todos los días (no simplemente el autorreproche o culpa por estar enfermo).

8. Disminución de la capacidad para pensar o concentrarse, o de tomar decisiones, casi todos los días (a partir del relato subjetivo o de la observación por parte de otras personas).

9. Pensamientos de muerte recurrentes (no sólo miedo a morir), ideas suicidas recurrentes sin un plan determinado, intento de suicidio o un plan específico para llevarlo a cabo.

B. Los síntomas causan malestar clínicamente significativo o deterioro en lo social, laboral u otras áreas importantes del funcionamiento.

C. El episodio no se puede atribuir a los efectos fisiológicos de una sustancia o de otra afección médica.

Nota: Los Criterios A–C constituyen un episodio de depresión mayor. Los episodios de depresión mayor son frecuentes en el trastorno bipolar I pero no son necesarios para el diagnóstico de trastorno bipolar I.

Nota: Las respuestas a una pérdida significativa (p. ej., duelo, ruina económica, pérdidas debidas a una catástrofe natural, una enfermedad o una discapacidad grave) pueden incluir el sentimiento de tristeza intensa, rumiación acerca de la pérdida, insomnio, falta del apetito y pérdida de peso descritos en el Criterio A, que pueden simular un episodio depresivo. Aunque estos síntomas pueden ser comprensibles o considerarse apropiados a la pérdida, también se debería considerar atentamente la presencia de un episodio de depresión mayor además de la respuesta normal a una pérdida significativa. Esta decisión requiere inevitablemente el criterio clínico basado en la historia del individuo y en las normas culturales para la expresión del malestar en el contexto de la pérdida. (6)

Anexo 3. Escala de Manía de Young

La Escala de Manía de Young (Mania Rating Scale, MRS) es un instrumento de cuantificación de síntomas que consta de 11 ítems, con 5 opciones en cada uno, que reflejan grados crecientes de intensidad sintomática. La selección de los ítems es empírica, y se basa en una selección de los síntomas considerados como nucleares de la fase maniaca del trastorno bipolar.

La asignación de niveles de severidad se basa en el informe subjetivo del paciente referido a las 48 horas previas, y en la observación de su comportamiento por el clínico durante la entrevista, con mayor énfasis en este último aspecto.

El entrevistador selecciona, para cada ítem, el nivel de intensidad / gravedad sintomática que mejor se ajuste a la situación clínica del paciente. Cada opción puntúa en un rango de 0 a 4, excepto 4 ítems (irritabilidad, expresión verbal, trastornos formales del pensamiento y agresividad) que tienen mayor peso en el global y puntúan doble (0, 2, 4, 6, 8). La ponderación doble de estos ítems se justifica por la pobre o nula cooperación en la entrevista clínica de los pacientes graves.

El rango total de la escala es de 0 – 60 puntos. No hay puntos de corte establecidos ni tampoco estratificación por niveles de severidad, y podemos encontrar distintos criterios en la bibliografía.

En los ensayos clínicos para la selección de sujetos se han utilizado puntos de corte que van desde < 6 para definir el estado eutímico, hasta > 24 en reclutamiento de pacientes para ensayo terapéutico.

Para definir niveles de severidad, pueden ser orientativa la categorización de Pope HG10, quien establece tres niveles (<10, 10-19, >19) que corresponden a hipomanía, manía leve y manía moderada-severa. En el trabajo de validación original los autores de la escala dividieron a los pacientes en cuatro niveles de severidad y las puntuaciones medias obtenidas en cada uno de ellos fueron de 12.5, 19.3, 25.5 y 37.9, valores estos que también pueden ser orientativos.

Escala de Manía de Young

1. Euforia

0. Ausente.

1. Posible o moderada, sólo cuando se le pregunta.

2. Clara, aunque subjetiva y apropiada al contenido: optimista, seguro de sí mismo/a, alegre.

3. Elevada e inapropiada.

4. Grave y desorganizada.

2. Hiperactividad

0. Ausente.

1. Subjetivamente aumentada.

2. Vigoroso/a, hipergestual.

3. Energía excesiva, hiperactividad fluctuante, inquietud.

4. Agitación o hiperactividad constante.

3. Impulso sexual

0. No aumentado.

1. Posible o moderadamente aumentado.
 2. Claro aumento al preguntar.
 3. Espontáneamente referido como elevado, contenido sexual del discurso, preocupación por temas sexuales.
 4. Actos o incitaciones sexuales evidentes.
4. Sueño
0. No reducido.
 1. Disminución en menos de una hora.
 2. Disminución en más de una hora.
 3. Refiere disminución de la necesidad de dormir.
 4. Niega necesidad de dormir.
5. Irritabilidad
0. Ausente.
 2. Subjetivamente aumentada.
 4. Irritabilidad fluctuante, episodios recientes de rabia o enfado.
 6. Predominantemente irritable, brusco y cortante.
 8. Hostil, no colaborador/a, no entrevistable.
6. Expresión verbal
0. No aumentada.
 2. Sensación de locuacidad.
 4. Aumentada de forma fluctuante, prolijidad.
 6. Claramente aumentada, difícil de interrumpir, intrusiva.
 8. Verborrea ininterrumpible y continua.
7. Trastornos del curso pensamiento
0. Ausentes.
 1. Circunstancialidad, distracción moderada, aceleración del pensamiento.
 2. Distracción clara, descarrilamiento, taquipsiquia.
 3. Fuga de ideas, tangencialidad, rimas, ecolalia.
 4. Incoherencia, ininteligibilidad.
8. Trastornos formales del pensamiento
0. Ausentes.
 2. Planes discutibles, nuevos intereses.
 4. Proyectos especiales, misticismo.
 6. Ideas grandiosas o paranoides, ideas de referencia.
 8. Delirios, alucinaciones.
9. Agresividad
0. Ausente.
 2. Sarcástico/a, enfático/a, lacónico/a.
 4. Querulante, pone en guardia.
 6. Amenazador/a, habla a gritos, entrevista difícil.
 8. Agresivo/a, destructivo/a, entrevista imposible.
10. Apariencia
0. Indumentaria apropiada y limpia.
 1. Ligeramente descuidada.

2. Mal arreglado/a, moderadamente despeinado/a, indumentaria sobrecargada.
 3. Despeinado/a, semidesnudo/a, maquillaje llamativo.
 4. Completamente desaseado/a, adornado/a, indumentaria bizarra.
11. Conciencia de enfermedad
0. Presente, admite la enfermedad, acepta tratamiento.
 1. Según él/ella, posiblemente enfermo/a.
 2. Admite cambio de conducta, pero niega enfermedad.
 3. Admite posible cambio de conducta, niega enfermedad.
 4. Niega cualquier cambio de conducta.

TOTAL:

Anexo 4. Manual de instrucción para uso del Kit “Human Inflammatory Cytokines Kit”

Ver PDF anexo de CBA, consultar el siguiente link

http://www.bdbiosciences.com/documents/CBA_Human_Inf_Cytokine_manual.pdf

Anexo 5. Procedimiento y control de calidad para la Evaluación de citocinas en suero / plasma

1. Se añadió 50 µl de la mezcla capturada a los tubos de ensayo correspondientes, posteriormente se agitó esta mezcla antes de agregarlas a los tubos de ensayo.
2. Se añadió 50 µl de la dilución estándar control a los tubos de ensayo.
3. Se agregaron 50 µl de cada muestra de prueba a los tubos de ensayo de prueba.
4. Se Incubaron los tubos de ensayo durante 1.5 horas a Temperatura ambiente protegidos de la luz.
5. Se añadió 1 ml de buffer de lavado a cada tubo de ensayo y se centrifugó a una velocidad de 200 durante 5 minutos.
6. Se aspiró y desechó el sobrenadante, dejando aproximadamente 100 µl de líquido en cada tubo de ensayo.
7. Se añadieron 50 µl del reactivo de detección de citocinas inflamatorias al tubo de ensayo.
8. Se volvieron a Incubar los tubos de ensayo durante 1.5 horas a Temperatura Ambiente y protegidos de la luz. A la par se realizó la configuración del citómetro.
9. Se añadió 1 ml de buffer de lavado a cada tubo de ensayo y se centrifugó a una velocidad de 200 durante 5 minutos
10. Se aspiró y desechó el sobrenadante de cada tubo de ensayo.
11. Se añadieron 300 µl de buffer de lavado a cada tubo de ensayo para resuspender el sedimento de microesferas.
12. Se analizaron las muestras en el citómetro de flujo, mediante la calibración del mismo con las primeras 9 rejillas de cada paquete de test de medición de cada una de las citocinas.

Anexo 6. Aprobación del comité estatal de ética en investigación

