

TRABAJO FIN DE MÁSTER
MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA
CURSO 2020-2021
UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

TÍTULO:

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ÁCIDO VALPROICO EN LOS NIVELES DE RBP4 EN SUERO DE PACIENTES CON TRASTORNO MENTAL GRAVE

AUTOR:

MIGUEL MEDINA GARCÍA

TUTOR ACADÉMICO:

PROF. DR JAVIER ESTEBAN MOZO

D. JAVIER ESTEBAN MOZO, Doctor y Profesor contratado del área de Toxicología del Departamento de Biología aplicada de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

CERTIFICA

Que el presente trabajo titulado:

“Evaluación del efecto del tratamiento con ácido valproico en los niveles de RBP4 en suero de pacientes con trastorno mental grave”

y que constituye la Memoria del Trabajo Fin de Máster en Biotecnología y Bioingeniería, que presenta:

D. MIGUEL MEDINA GARCÍA

ha sido realizado bajo su supervisión en el Instituto de Bioingeniería, cumpliendo todos los requisitos necesarios.

Y para que así conste, se expide y firma el presente certificado en Elche a 21 de junio de 2021

Fdo.: Prof. Javier Esteban Mozo

RESUMEN

El tratamiento con psicofármacos en pacientes con trastorno mental grave y concretamente con ácido valproico (VPA), se asocia a una serie de efectos secundarios, entre los cuales se encuentran algunos de los elementos del síndrome metabólico, como la obesidad. El sistema retinoide está involucrado en diferentes procesos de regulación celular por lo que su alteración puede resultar en diversas patologías. Particularmente, el aumento de los niveles de RBP4 se ha asociado a diversas enfermedades. Por ello, los objetivos del presente trabajo son 1) medir los niveles de RBP4 en suero de pacientes en tratamiento con psicofármacos y 2) evaluar los efectos del tratamiento y de los elementos del síndrome metabólico en los niveles de RBP4. Se recopiló información de 74 pacientes con diversos trastornos mentales en tratamiento con algún tipo de psicofármaco en el centro socio sanitario Dr. Esquerdo de San Juan y se cuantificaron los niveles de RBP4 mediante un test de ELISA. Los psicofármacos más frecuentes fueron los neurolepticos clozapina y haloperidol y el anticonvulsivo ácido valproico. Los elementos del síndrome metabólico más alterados fueron el peso y la dislipidemia. El tratamiento con ácido valproico se asoció a mayores niveles de RBP4. La asociación entre el ácido valproico y el aumento de niveles de RBP4 podría indicar un riesgo incrementado de sufrir alguna condición médica relacionada con el síndrome metabólico.

PALABRAS CLAVE

Síndrome metabólico, psicofármacos, ácido valproico, RBP4

ABSTRACT

Treatment with psychopharmaceuticals in patients with severe mental disorders and specifically with valproic acid (VPA) is associated with a series of side effects, among which are some of the elements of the metabolic syndrome, such as obesity. The retinoid system is involved in the regulation of different processes, so its alteration can result in various pathologies. In particular, increased RBP4 levels have been associated with various diseases. Therefore, the objectives of this work are to measure the levels of RBP4 in serum of patients undergoing treatment with psychopharmaceuticals and to evaluate their effects on the development of elements of the metabolic syndrome. Information was collected from 74 patients with various mental disorders undergoing treatment with some type of psychopharmaceuticals at the Dr. Esquerdo de San Juan socio-sanitary center, and RBP4 levels were quantified using an ELISA test. The most common psychopharmaceuticals were the neuroleptics clozapine and haloperidol and the anticonvulsant valproic acid. The most altered elements of the metabolic syndrome were weight and dyslipidemia. Valproic acid treatment was associated with higher levels of RBP4. The association between valproic acid and increased levels of RBP4 could indicate an increased risk of suffering from a medical condition related to metabolic syndrome.

KEY WORDS

Metabolic syndrome, psychopharmaceuticals, valproic acid, RBP4

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Estructura química del ácido valproico, **página 4.**

Figura 2. Funciones desempeñadas por el sistema retinoide, **página 9.**

Figura 3. Ingesta dietética de retinoides y absorción en el intestino, **página 11.**

Figura 4. Principios de la prueba de Elisa, **página 15.**

Figura 5. Pacientes con tratamiento de los distintos neurolépticos, **página 20.**

Figura 6. Pacientes con tratamiento de los distintos anticonvulsivos, **página 21.**

Figura 7. Pacientes con tratamiento de los distintos antidepresivos, **página 22.**

Figura 8. Pacientes con tratamiento de los distintos ansiolíticos, **página 23.**

Figura 9. Niveles de RBP4 en relación a la presencia o ausencia de tratamiento con ácido valproico (AVP), **página 26.**

Figura 10. Niveles de RBP4 asociados al índice de masa corporal del paciente, **página 27.**

Figura 11. Niveles de RBP4 en relación a la presencia o ausencia de tratamiento frente al peso, **página 28.**

Figura 12. Niveles de RBP4 en relación a la presencia o ausencia de tratamiento frente a la dislipidemia, **página 29.**

- Tabla 1.** Elaboración del tampón de lavado, **página 15.**
- Tabla 2.** Elaboración de la dilución de RBP4 humano estándar **página 16.**
- Tabla 3.** Elaboración del tampón de ensayo, **página 16.**
- Tabla 4.** Elaboración del conjugado de biotina, **página 17.**
- Tabla 5.** Elaboración de la Estreptavidina-HRP, **página 17.**
- Tabla 6.** Descripción de los pacientes de la cohorte, **página 19.**
- Tabla 7.** Pacientes en tratamiento con neurolépticos, **página 20.**
- Tabla 8.** Pacientes en tratamiento con anticonvulsivos, **página 21.**
- Tabla 9.** Pacientes en tratamiento con antidepresivos, **página 22.**
- Tabla 10.** Pacientes en tratamiento con ansiolíticos, **página 23.**
- Tabla 11.** Pacientes incluidos en un programa frente a la ganancia de peso, **página 24.**
- Tabla 12.** Pacientes incluidos en un programa frente a la dislipidemia, **página 24.**
- Tabla 13.** Pacientes incluidos en un programa frente a la hipertensión arterial, **página 25.**
- Tabla 14.** Pacientes incluidos en un programa frente a la diabetes tipo 2, **página 25.**
- Tabla 15.** Niveles medios de RBP4 de la cohorte, **página 26.**
- Tabla 16.** Resumen de los niveles de RBP4 en relación a los factores asociados al síndrome metabólico, **página 30.**

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
1.1. Trastorno mental grave	1
1.2 Tratamiento con psicofármacos del trastorno mental grave	3
1.2.1. Ácido valproico	4
1.2.2. Efectos secundarios de los psicofármacos	6
1.3. Biomarcadores	8
1.3.1. Sistema Retinoide	9
1.3.2. RBP4	11
2.OBJETIVOS	12
3.MATERIAL Y MÉTODOS	13
3.1 Revisión bibliográfica	13
3.2 Procedimiento experimental	13
4.RESULTADOS	19
4.1 Descripción de la cohorte	19
4.2 Tratamiento con psicofármacos de los pacientes	19
4.3 Factores de riesgo del síndrome metabólico	24
4.4 Efectos del tratamiento con ácido valproico sobre los niveles de RBP4	26
4.5 Niveles de RBP4 asociados a factores del síndrome metabólico	27
5.DISCUSIÓN	31
5.1 Cohorte de estudio	31
5.2 Tratamiento con psicofármacos	31
5.3 Efectos del tratamiento con psicofármacos en los niveles de RBP4	33
5.4 Efectos de los elementos del síndrome metabólico en los niveles de RBP4	34
5.5 Limitaciones del estudio	36
6.CONCLUSIONES	37
7. BIBLIOGRAFÍA	38
8. AGRADECIMIENTOS	44

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1.1. Trastorno mental grave

El término trastorno mental grave (TMG) abarca diversos tipos de entidades nosológicas, que cursan con alteraciones mentales de duración prolongada, que conllevan un grado de discapacidad y disfunción de carácter social y que han de ser atendidos en diversos centros asistenciales de la red de atención psiquiátrica y social (Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, 2003). Hasta el momento no se han establecido unos criterios firmes y homogéneos que definan el TMG y que puedan ser utilizados para determinar su morbilidad y su prevalencia y así poder planificar unos servicios adecuados.

Quizás la definición más representativa y que se ha utilizado más comúnmente sea la que emitió el Instituto Nacional de Salud Mental de EE.UU. en 1987 (NIMH, 1987) la cual incluye tres factores a considerar (A.E.N. 2002):

1. Diagnóstico: Se incluyen todos los trastornos psicóticos (excluyendo los orgánicos) además de algunos trastornos de personalidad. En la clasificación CIE-10 (clasificación internacional de enfermedades) serían los códigos correspondientes a:

F20-F22: Esquizofrenia, trastorno esquizotípico, y trastornos delirantes

F24: Trastorno psicótico compartido

F25: Trastornos esquizoafectivos

F28-F29: Trastornos psicóticos no debidos a sustancia ni afección fisiológica conocidas

F30: Episodio maníaco

F31: Trastorno bipolar

F32.2: Trastorno depresivo mayor, episodio único, grave con síntomas psicóticos

F33.3: Trastorno depresivo mayor, recurrente grave con síntomas psicóticos

2. Duración de la enfermedad y del tratamiento: El tiempo debe de ser igual o superior a dos años.

3. Presencia de discapacidad: Existencia de una alteración moderada o severa del funcionamiento global, medido a través del GAF (Global Assessment of Functioning, 1987), que indica una afectación del funcionamiento tanto laboral, social o familiar (A.E.N. 2002).

En comparación con la población general, la población adulta que sufre de enfermedades mentales graves (incluida la esquizofrenia, el trastorno bipolar o la depresión mayor) experimentan dificultades en diversos aspectos de la vida cotidiana, como la educación, obtención de empleo y vivienda, uso de servicios de atención médica, compromiso comunitario y esperanza de vida. (Muirhead L, 2014). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los trastornos mentales son una de las principales causas de discapacidad en el mundo (Murray y López, 2002). Concretamente, tres de cada 10 personas entre 15 y 44 años que sufren alguna discapacidad, es debido a trastornos mentales. Estudios tanto prospectivos como retrospectivos, demuestran que la mayoría de los trastornos mentales presentes en la edad adulta comienzan en la niñez y en la adolescencia (Kessler et al., 2007).

El estilo de vida y los cuidados recibidos en la infancia tienen una enorme influencia en el posterior desarrollo de algún tipo de trastorno mental y, más explícitamente, cuando nos referimos a los trastornos mentales graves. Es decir, que la aparición del trastorno se deriva de un estilo de vida alterado por la influencia de diversos hechos o vivencias graves (Artigue y Tizón, 2014).

Los trastornos mentales graves, se detectan mayoritariamente cuando ya se ha producido un episodio agudo o una hospitalización psiquiátrica, siendo difícil una identificación preventiva que sea útil para evitar la cronicidad del trastorno. A parte, los factores ambientales también tienen cierta repercusión en la organización del sistema cerebral y en la transmisión genética que, a su vez, determinará el posible desarrollo de algún trastorno mental en la edad adulta (Artigue y Tizón, 2014).

1.2 Tratamiento con psicofármacos del trastorno mental grave

En el tratamiento de muchas enfermedades psiquiátricas se utilizan comúnmente tres clases amplias de medicamentos: antidepresivos, estabilizadores del estado de ánimo (anticonvulsivos) y antipsicóticos o neurolépticos. Los antidepresivos son un soporte fundamental en el tratamiento de la ansiedad y los trastornos depresivos y pueden administrarse de manera única o combinándose con otros agentes, como la fluoxetina (antidepresivo) y la olanzapina (antipsicótico) para el tratamiento de la depresión bipolar (Abosi et al., 2018). Los estabilizadores del estado de ánimo incluyen al litio, ácido valproico, carbamazepina o lamotrigina, muchos de los cuales tienen propiedades anticonvulsivas. Estos son la base para el tratamiento del trastorno bipolar y, a veces, se utilizan como tratamiento en otros trastornos del estado de ánimo. Finalmente, los antipsicóticos, también conocidos como neurolépticos son otra clase importante, comúnmente dividida en antipsicóticos de primera y segunda generación. Los antipsicóticos de primera generación más conocidos incluyen: flufenazina, haloperidol y clorpromazina. Por el contrario, los antipsicóticos de segunda generación incluyen agentes como aripiprazol, olanzapina, clozapina, quetiapina y risperidona. Estos últimos cada vez son más utilizados en el tratamiento de algo más que trastornos psicóticos e incluso se utilizan fuera de los usos que se encuentran en la ficha técnica para el tratamiento de afecciones como el insomnio. Sin embargo, estos agentes se asocian con un riesgo elevado de complicaciones metabólicas (Simpson, 2005). La selección de la medicación para el tratamiento de cada paciente depende de varios factores que incluyen, entre otros, el tratamiento de los síndromes psiquiátricos agudos y la prevención de episodios futuros. Además, también se deben considerar los diferentes efectos secundarios de cada fármaco (Abosi et al., 2018).

El ácido valproico constituye una parte importante de los resultados obtenidos en este trabajo, por lo que se describe con más detalle en comparación con el resto de psicofármacos.

1.2.1. Ácido valproico

El ácido valproico (del inglés, **valproic acid - VPA**) (**Figura 1**) es un ácido graso ramificado de cadena corta extraído de la planta de la valeriana (Belcastro et al., 2013). Tiene un peso molecular de 144,2114 g/mol y su fórmula química es $C_8H_{16}O_2$.

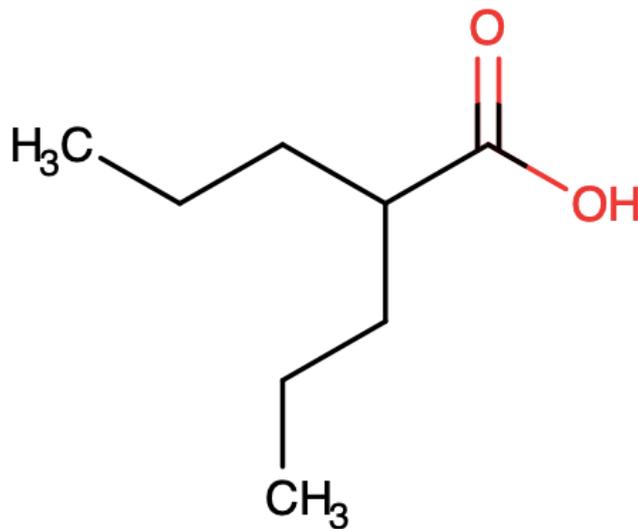


Figura 1. DrugBank: “Valproic Acid” (DB00313)

Es un anticonvulsivo utilizado para tratar un amplio espectro de epilepsias focales y generalizadas, aunque también se utiliza como estabilizador del ánimo fuera de la indicación establecida en su ficha técnica. Las formas tanto intravenosa como oral del ácido valproico se espera que produzcan el mismo AUC (área bajo la curva, correspondiente a la cantidad del fármaco que alcanza la circulación sistémica), $C_{máx}$ (concentración plasmática máxima obtenida tras su administración) y $C_{mín}$ (concentración plasmática mínima obtenida tras su administración) en el estado estacionario. Este fármaco ha estado disponible como tratamiento oral en los Estados Unidos desde 1978 (Vossler et al., 2002) y como formulación inyectable desde 1993 (Trinka et al., 2014). Su nivel terapéutico se alcanza dentro de un rango de 50-100 mcg / ml (Fajardo et al., 2012).

Su descubrimiento fue por casualidad y fue sintetizado por primera vez en 1882 por Burton (1882) como un análogo del ácido valérico. (Burton, 1882). Durante varias décadas, solo se usaba en el laboratorio como disolvente de compuestos orgánicos. Sin embargo, debido al experimento realizado por Pierre Eymard, en 1962, en la Universidad de Lyon, se observó una fuerte actividad anticonvulsiva en las soluciones donde este compuesto estaba presente. Debido a esto, se investigó el VPA como un agente potencialmente eficaz frente a la epilepsia (Meunier et al., 1963). En 1967, se aprobó finalmente en Francia como un antiepiléptico (Aldenkamp et al., 2006). Además, el VPA, fue el primero, y hasta 1990, el único fármaco que contaba con un amplio espectro de actividad, comprobándose su efectividad frente a la epilepsia generalizada idiopática (Aldenkamp et al., 2006). Además, ha demostrado ser beneficioso en múltiples patologías neurológicas, en el manejo de adicciones a psicofármacos, en enfermedades psiquiátricas, cáncer y asma (Fajardo et al., 2012), así como en el tratamiento del trastorno bipolar, y en el comportamiento impulsivo agresivo en pacientes con trastornos de personalidad (Johannessen Landmark, 2008).

Su mecanismo de acción se basa en su capacidad para poder amortiguar la hiperexcitabilidad neuronal mediante la potenciación de la neurotransmisión inhibitoria a través de un efecto sobre el metabolismo del ácido gamma-aminobutírico (GABA). Sin embargo, este mecanismo de acción sigue siendo un tema controvertido, ya que además de lo comentado con anterioridad, estudios recientes muestran nuevas actividades para el VPA, incluyendo efectos sobre los canales de sodio dependientes de voltaje, acciones mediadas por el receptor NMDA y como inhibidor de histona desacetilasa (HDAC) (Belcastro et al., 2013). Al igual que posibles efectos sobre el sistema retinoide, llegando incluso a provocar teratogénesis, es decir, causando anomalías estructurales y/o funcionales durante el desarrollo del feto (Castañón y Mayet, 2013).

El VPA se metaboliza en el hígado por proceso de glucuronidación y en menor grado por oxidación β (Kantoush et al., 1998).

A pesar de su uso extendido, la administración continua de fármacos antiepilépticos puede dar lugar a complicaciones de larga duración como trastornos psiquiátricos, trastornos metabólicos, trastornos endocrinos, reacciones idiosincrásicas y en algunos casos efectos de interacción farmacológica (Koksal, 2012). La terapia con VPA también se asocia con una elevación de los triglicéridos (TG), así como con niveles disminuidos de HDL-C (Belcastro et al., 2013).

1.2.2. Efectos secundarios de los psicofármacos

El exceso de mortalidad en personas con trastorno mental grave es un importante desafío en relación a la salud pública, ya que existe una esperanza de vida de 10 a 20 años menor en comparación con la población general (Liu et al., 2017). Esta mortalidad prematura se ha documentado en diversos estudios y revisiones y cada vez son más los autores que ponen su centro de atención en este tema, aunque todavía no se ha hecho un progreso importante respecto a ello. La mayoría de los fallecimientos de personas que sufren de estos trastornos suelen ser debido a enfermedades que se pueden llegar a prevenir, especialmente, problemas cardiovasculares, físicos, metabólicos y/o respiratorios (Liu et al., 2017).

Los factores de riesgo que llevan a padecer este tipo de enfermedades a las personas con trastorno mental grave incluyen características propias de estos trastornos, como son los síntomas de la enfermedad, la impulsividad o la desregulación metabólica. También lo son los comportamientos problemáticos, tanto con el servicio médico como con el resto de pacientes y sobre todo el tabaquismo, suponiendo esto una de las principales causas de muerte entre las personas que sufren de trastorno mental grave (Liu et al., 2017).

Por otro lado, otras de las causas que también se relacionan con la aparición de estas enfermedades son los factores del sistema de salud, donde se incluyen las infraestructuras o los tratamientos, siendo un pilar de estos el uso de psicofármacos. La prescripción de psicofármacos ha aumentado drásticamente durante la última década. Aunque su consumo promueve efectos neuropsiquiátricos beneficiosos,

muchos trastornos mentales, como la esquizofrenia, el trastorno bipolar y la depresión mayor, conllevan una carga excesiva de morbilidad y mortalidad cardiovascular (Liu et al., 2017). Los medicamentos utilizados para tratar estas afecciones pueden presentar efectos secundarios que pueden repercutir de manera sustancial en la salud de los pacientes y pueden afectar adversamente en el riesgo cardiovascular, agravando las diferencias en la salud de las poblaciones vulnerables. Existe una necesidad clínica de tener en cuenta los distintos efectos adversos tanto cardiovasculares como metabólicos de los medicamentos psicotrópicos (Abosi et al., 2018). Dependiendo del entorno personal, tanto la falta de tratamiento con antipsicóticos, como una dosis excesiva de los mismos, pueden ser factores de riesgo de una mortalidad elevada. Por tanto, una vez que se recetan este tipo de fármacos, es importante monitorizar todos los posibles efectos secundarios que puedan surgir (Liu et al., 2017).

Concretamente, si nos enfocamos en el VPA, se ha asociado con problemas tanto metabólicos como endocrinos, como pueden ser una ganancia de peso e hiperinsulinemia, que conllevan un riesgo cardiovascular en pacientes con epilepsia. (Verrotti et al., 2010).

Además, posiblemente puede influir en los factores de riesgo aterotrombóticos como los lípidos séricos, el nivel de ácido úrico y la homocisteína, por lo que el tratamiento con VPA puede representar un factor de riesgo implícito para las enfermedades vasculares sistémicas (Belcastro et al., 2013).

También se ha observado que este tratamiento con VPA puede llegar a estar relacionado con distintos elementos del síndrome metabólico (Verrotti et al., 2010).

1.3. Biomarcadores

Una estrategia para relacionar estos efectos secundarios correspondientes a los elementos del síndrome metabólico, con la administración de los psicofármacos, y más concretamente del ácido valproico, es el estudio de biomarcadores sanguíneos mediante proteómica y metabolómica, junto con el perfil de la microbiota intestinal de los pacientes, ya que esta última se ha asociado recientemente con diversos trastornos mentales (Arreguín, 2017).

Un biomarcador es una característica que puede ser objetivamente medida y estimada como un indicador de procesos biológicos comunes, procesos patológicos o respuestas a una operación terapéutica (Feigin, 2004). Los biomarcadores se utilizan como herramientas en el diagnóstico y la detección precoz de la enfermedad, el pronóstico o la predicción del resultado del tratamiento. Pueden establecer la base para el diseño, mejorar la seguridad, la eficiencia y explicar los resultados empíricos que se obtienen de los ensayos clínicos (Choong and Tsafnat, 2012).

Idealmente, un biomarcador debe ser no invasivo y fácil de obtener, además de ser fácilmente medible, específico, sensible, cuantitativo, y relacionado con el mecanismo bioquímico. Para poder realizar tratamientos e intervenciones terapéuticas tempranas, más que biomarcadores de la enfermedad, es necesario contar con biomarcadores de salud, que permitan evaluar el estado metabólico y detectar desviaciones de la homeostasis en fases tempranas (Arreguín, 2017).

En este estudio nos vamos a centrar en el sistema retinoide, y en biomarcadores pertenecientes a él, puesto que está asociado con alteraciones metabólicas.

1.3.1. Sistema Retinoide

El sistema retinoide (**Figura 2**) es un sistema de regulación celular con un papel crucial en muchos aspectos de la vida (Sánchez, 2017):

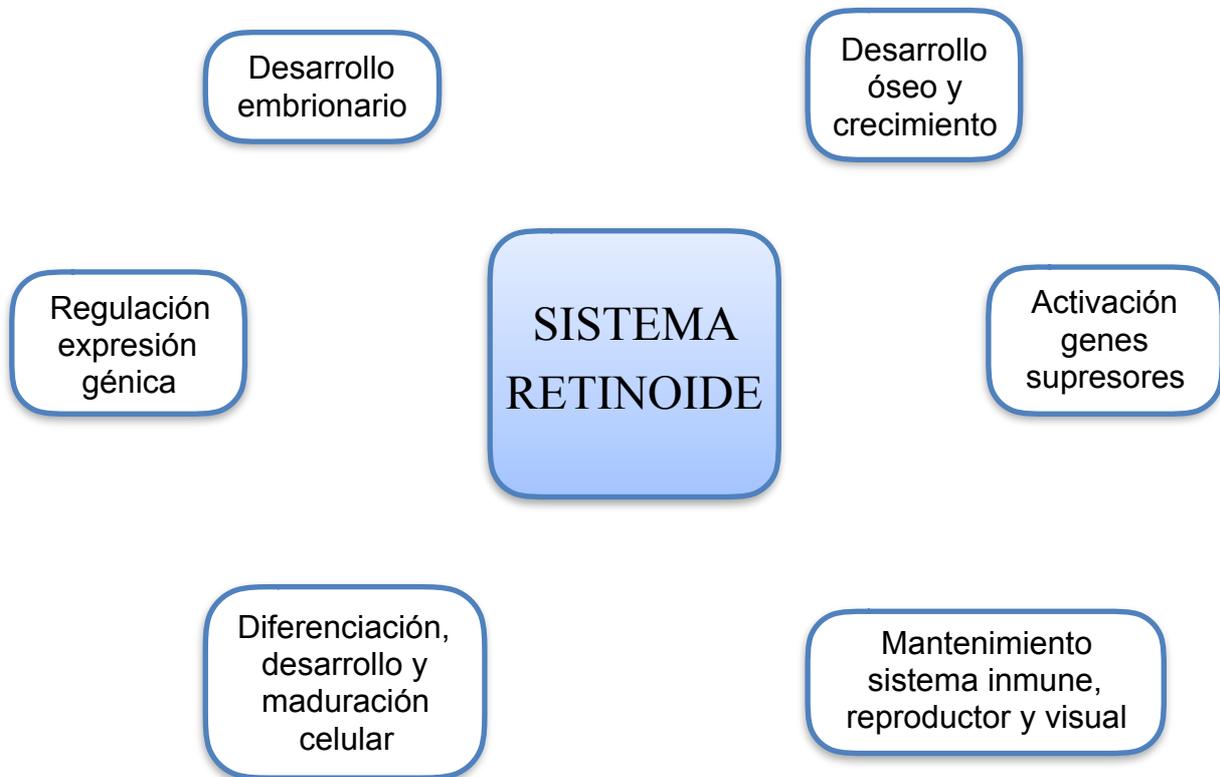


Figura 2. Funciones desempeñadas por el sistema retinoide

Este sistema está formado por compuestos retinoides, proteínas de transporte, enzimas de biotransformación, transportadores y receptores nucleares. El término “retinoide” es una denominación genérica que incluye tanto las formas naturales de la vitamina A, como otros análogos sintéticos del retinol (Blomhoff et al., 1991, Blomhoff y Blomhoff, 2006). Se sabe que los efectos biológicos de los retinoides dependen de: una proteína transportadora citosólica que se denomina proteína transportadora del ácido retinoico celular (del inglés, *Cellular Retinoic Acid Binding Protein* - CRABP) y una serie de receptores nucleares divididos en dos subtipos, los receptores del ácido retinoico (del inglés, *Retinoic Acid Receptors* - RAR) y los receptores X de los retinoides (del inglés, *Retinoid X Receptors* - RXR) (Pfahl, 1996).

La vitamina A y su compuesto de origen, el retinol, fue descubierta a principios del siglo XX, otorgándose a Frederick Gowland Hopkins el Premio Nobel de Medicina en 1929 por su descubrimiento (Semba, 2012). Sin embargo, el conocimiento de la mayoría de formas retinoides de origen biológico, y de las distintas vías metabólicas en las que están involucradas, se sigue estudiando desde entonces.

Actualmente se conoce multitud de formas retinoides, no obstante, todavía hay nuevos retinoides endógenos por descubrir (Fernandez y Armario, 2003). Por lo tanto, una mejor comprensión del funcionamiento del sistema retinoide es imprescindible para entender su papel tanto en la salud como en la enfermedad a lo largo de la vida, así como en farmacología, toxicología y medicina medioambiental.

Los retinoides se adquieren a través de la dieta en forma de β -caroteno, presente en productos vegetales, y en forma de retinol y ésteres de retinilo, que se encuentran en productos de origen animal, como la carne y la leche (Theodosiou et al., 2010). El proceso de absorción de los retinoides (**Figura 3**) comienza con la transformación de los β -carotenos en retinol, proceso que ocurre en los enterocitos del intestino mediado por la enzima β,β -caroteno-15,15'-monooxigenasa (BCO-I). Por otro lado, los ésteres de retinilo son convertidos en retinol por la familia de hidrolasas de ésteres de retinilo (REHs). A su vez, el retinol se une a la proteína celular de unión a retinol tipo II (CRBP II), que facilita su unión con la enzima lecitina-retinol aciltransferasa (LRAT), cuya función es catalizar la esterificación del retinol y dar lugar a ésteres de retinilo. Estos se liberan desde el intestino, formando parte de quilomicrones, hacia el sistema circulatorio portal, desde donde pasan al hígado. Una vez en los hepatocitos, los ésteres de retinilo son convertidos de nuevo en retinol por las hidrolasas de ésteres de retinilo (REHs). El retinol unido a la proteína de unión al retinol (RBP) puede pasar a la circulación formando el complejo transtiretrina-RBP-retinol (TTR-RBP-REOH) que asegura su llegada a los tejidos diana, previniendo su filtración por los riñones. Destacar, que si este retinol formado de nuevo en los hepatocitos no pasa a la circulación, se almacena en forma de ésteres de retinilo en las células estrelladas del hígado. (Theodosiou et al., 2010).

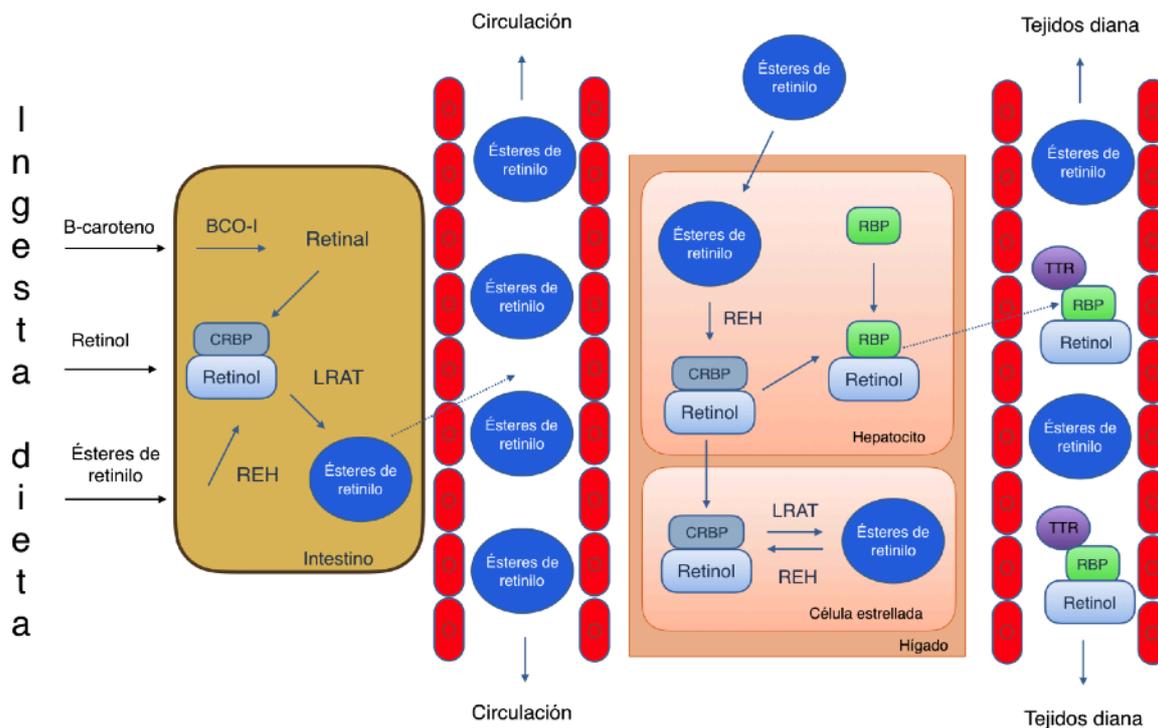


Figura 3. Ingesta dietética de retinoides y absorción en el intestino. Editado de Theodosiou et al., 2010.

Se ha demostrado que la proteína de unión al retinol 4 (RBP4), una proteína de transporte de retinol, se puede utilizar como biomarcador llegando a desempeñar un papel en el establecimiento del vínculo entre la obesidad y la resistencia a la insulina y, por lo tanto, contribuye a la patogenia del síndrome metabólico y la diabetes tipo 2 (Arreguín, 2017).

1.3.2. RBP4

Desde la primera definición de la retinol binding protein (RBP) por Kanai, Raz y Goodman, se han descrito distintos tipos de RBP, tanto en compartimentos intracelulares como en extracelulares. Así, además de la RBP originaria, hoy se conocen las retinol binding proteins celulares (CRBP I y II), las retinol binding proteins de interfotorreceptores (CRALBP e IRBP) y las ácido retinoico binding proteins (CRABP I y II). Según su nomenclatura genética existe la tendencia de denominar a la RBP como RBP4 (proteína transportadora de retinol tipo 4) (Ramirez, 2009).

El RBP4 es un polipéptido de 21000 Da con una velocidad de sedimentación de 2'26 S y unos 40 Å de diámetro. Está codificado en el cromosoma 10q 23-24, y sus niveles plasmáticos oscilan en torno a los 0,95 - 2,5 nmol/ml, siendo posiblemente más elevados en los varones (Ramirez, 2009). Su principal localización de síntesis de RBP4 es el hígado. Sin embargo, en modelos animales se conocen otros lugares de secreción de RBP4 como el tejido adiposo, los riñones, los pulmones, el corazón, el músculo esquelético, el bazo, las células de Sertoli del testículo, los plexos coroideos del cerebro y la retina (Arreguín, 2017).

La secreción de RBP4 está estrechamente regulada por la disponibilidad de retinol. En ausencia de este, se inhibe la secreción de RBP4, acumulándose la proteína en el retículo endoplasmático. En presencia de retinol, la RBP4 se une a él en el aparato de Golgi, y es segregada como holo-RBP4 (RBP4 con retinol). De este modo es como se encuentra generalmente en plasma, aunque también puede encontrarse como apo-RBP4 (RBP4 sin retinol).

En ambos casos sigue circulando unido a la transtiretina (TTR) antes conocida como prealbúmina transportadora de tiroxina. Cada TTR se une a 2 moléculas de RBP4 dando como resultado una molécula final de 80000 Da. Este gran tamaño es el que protege a la RBP4 de su posible filtración renal y su extravasación al espacio intercelular.

2. OBJETIVOS

Los objetivos en los que se centra este estudio, realizado a partir de la cohorte de pacientes del centro Dr. Esquerdo son los siguientes:

- Identificar los distintos psicofármacos administrados a los pacientes.
- Cuantificar los niveles de RBP4 en suero.
- Evaluar la relación entre los distintos psicofármacos administrados y los niveles de RBP4.
- Evaluar la relación entre los niveles de RBP4 y los distintos elementos del síndrome metabólico.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Revisión bibliográfica

En un primer lugar se destacan las bases de datos de revistas científicas que se han utilizado para identificar los diferentes artículos utilizados en la realización de este trabajo, las cuales son Scopus, ScienceDirect, PubMed y Nature.

El programa Mendeley se utilizó como gestor de referencias bibliográficas.

3.2 Procedimiento experimental

Pacientes

En primer lugar, se contó con la ayuda del personal del centro socio sanitario Dr. Esquerdo, para reclutar los pacientes del estudio, explicar en qué consiste el proyecto, así como cumplimentar el consentimiento informado si les parecía oportuno participar en el mismo. También se firmó un documento de confidencialidad para la total protección de los datos personales de cada uno de los pacientes. Así, se obtuvo el consentimiento de todos aquellos pacientes que estaban capacitados para ello. Si no fuera el caso, se procedió a comunicarse telefónicamente con su tutor legal, además de con el propio paciente, para obtener un consentimiento por ambas partes. Una vez obtenidos todos los consentimientos, se les asignó un número a cada uno, cifrando así su nombre para total privacidad.

Como está estipulado en el protocolo, las muestras de suero se obtuvieron mediante el seguimiento analítico del paciente extrayendo 3 mL adicionales para este estudio. Todas las muestras extraídas se procesaron en el propio centro para obtener el suero mediante centrifugación. Se rotularon con el número identificativo de cada paciente, procediendo con la conservación de la muestra y su posterior envío al laboratorio de Toxicología del Instituto de Bioingeniería de la Universidad Miguel Hernández.

Recopilación de datos de los pacientes

Además de la obtención de la muestra y de los consentimientos de los pacientes, se accedió a los historiales clínicos de todos ellos a través de la base de datos del centro HISCLIPA (Historial clínico de pacientes del Centro socio asistencial Dr. Esquerdo). Una vez accedido a la base de datos, se recogieron las distintas variables demográficas de los pacientes (sexo, edad, estado civil, tutor, tipo de ingreso y situación legal), las variables de antecedentes patológicos (alcohol y tabaco), y los antecedentes de enfermedades previas, excluyendo los distintos trastornos mentales. También se recopiló la información acerca de todos los fármacos que cada uno de los pacientes tuviese prescritos, y se dividió en cada una de las categorías existentes: neurolépticos, antidepresivos, ansiolíticos y anticonvulsivos así como los distintos programas en los que los pacientes estaban incluidos (frente a peso, dislipidemia, diabetes o hipertensión). Asimismo, se registraron todas las variables antropométricas y bioquímicas existentes para cada uno de los pacientes.

Remarcar, que, para el desarrollo de la parte experimental del presente trabajo, se tuvo la aprobación del Órgano Evaluador de Proyectos de la UMH, así como del Comité de Ética de Investigación con Humanos, con código de investigación responsable TFM.MBB.JE.MMG.210505.

Cuantificación de los niveles de RBP4 mediante ELISA

Para medir los niveles de RBP4 se utilizó el kit de detección de RBP4 humana de Invitrogen, el cual se basa en un ensayo Elisa cuantitativo (Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA).

Brevemente, las muestras se diluyeron a 1:40.000 durante el ensayo y los estándares se prepararon utilizando un estándar de RBP4 humano liofilizado. Teniendo en cuenta que los pocillos de la microplaca suministrada vienen recubiertos por un anticuerpo específico, se añadieron las distintas muestras, estándares y controles a estos pocillos uniéndose al anticuerpo inmovilizado. Se añadió también el conjugado de biotina, la estreptavidina y el sustrato conforme a las instrucciones del kit (**Figura 4**). La absorbancia se monitorizó a 620 nm y se registró sus valores a 450 nm. Las muestras se analizaron por duplicado. La cuantificación

final de los niveles de RBP4 se consideró aceptable cuando la absorbancia medida de los distintos duplicados estaba comprendida dentro de un 20% del valor medio. Una vez considerado esto, los niveles de RBP4 en ng/mL se calcularon mediante el paquete *polynom* en la versión 4.0.3 del software R. La conversión de unidades de ng/mL a nmol/mL se realizó teniendo en cuenta el peso molecular correspondiente a 21000 g/mol (Colantuoni et al., 1983).

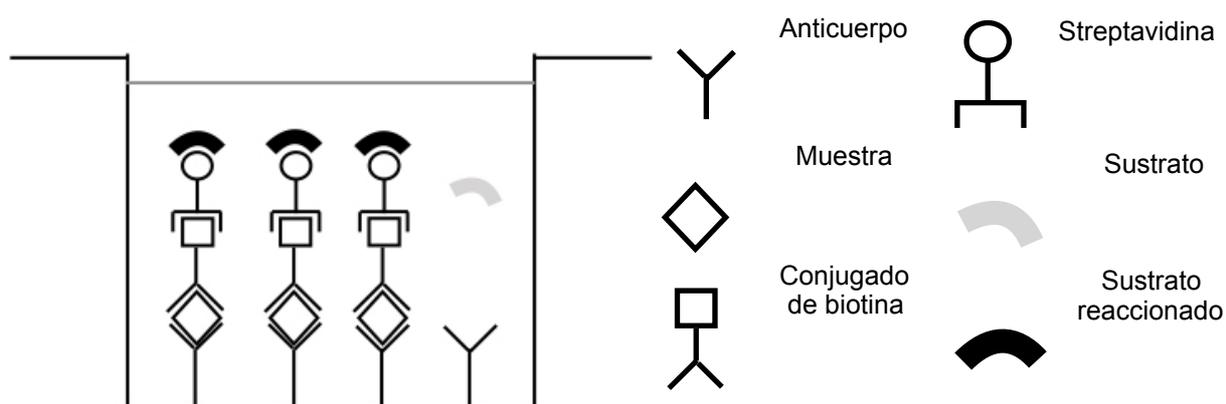


Figura 4. Principios de la prueba de Elisa.

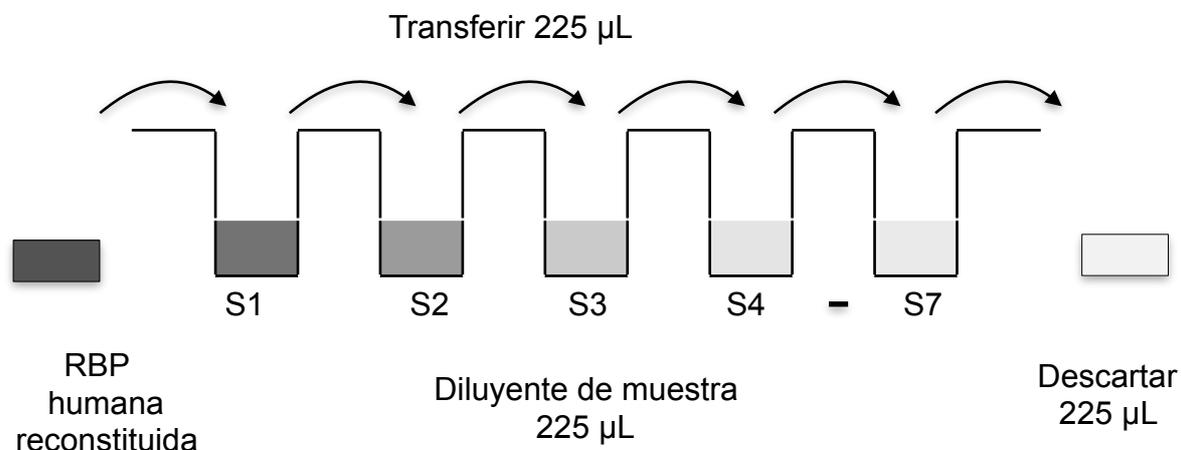
Para la elaboración del tampón de lavado, se diluyó 25 ml de tampón de lavado 20x en 475 ml de agua destilada si se utilizó la mitad de la microplaca, y 50 ml de este mismo tampón en 950 ml de agua destilada para la placa completa (**Tabla 1**).

Tabla 1. Elaboración del tampón de lavado.

Columnas de la microplaca	Concentrado de tampón de lavado (20x) (ml)	Agua destilada
1 - 6	25	475
1- 12	50	950

Para la elaboración de la dilución seriada de RBP4 estándar, se partió de 7 tubos a los que se le añadió inicialmente 225 μ L de diluyente de muestra a cada uno de ellos. Se pipeteó 225 μ L del estándar reconstituido (8 ng/mL) en el primer tubo y de este se transfirió 225 μ L al siguiente tubo. Este paso se realizó hasta llegar al último de los tubos (**Tabla 2**).

Tabla 2. Elaboración de la dilución de RBP4 humano estándar.



Para el tampón de ensayo, se diluyó 2,5 ml de tampón de lavado 20x en 47,5 ml de agua destilada si se utilizó la mitad de la microplaca, y 5,0 ml de este mismo tampón en 95,0 ml de agua destilada para la placa completa (**Tabla 3**).

Tabla 3. Elaboración del tampón de ensayo.

Columnas de la microplaca	Concentrado de tampón de ensayo (20x) (ml)	Agua destilada
1 - 6	2,5	47,5
1- 12	5,0	95,0

Para elaborar el conjugado de biotina, se diluyó 0,03 ml del conjugado de botina suministrado por el kit en 2,97 ml de tampón de ensayo (1x) para la mitad de la microplaca, y 0,06 ml del conjugado en 5,94 ml del tampón para el caso de la placa completa (**Tabla 4**).

Tabla 4. Elaboración del conjugado de biotina.

Columnas de la microplaca	Conjugado de Biotina (ml)	Tampón de ensayo (1x) (ml)
1 - 6	0,03	2,97
1- 12	0,06	5,94

En la elaboración de la Estreptavidina-HRP, se diluyó 0,06 ml de la Streptavidina proporcionada por el kit en 5,94 ml de tampón de ensayo (1x) en el caso de media placa y 0,12 ml de Streptavidina en 11,88 ml de tampón para la placa completa (**Tabla 5**).

Tabla 5. Elaboración de la Estreptavidina-HRP.

Columnas de la microplaca	Sterptavidina-HRP (ml)	Tampón de ensayo (1x) (ml)
1 - 6	0,06	5,94
1- 12	0,12	11,88

El protocolo de forma detallada consistía en los siguientes pasos:

- Dilución 1: 10 µl de muestra + 390 µl de diluyente de muestra.
- Dilución 2: 10 µl de dilución 1 + 990 µl de diluyente de muestra.
- Lavar los pocillos 2 veces con tampón de lavado (**Tabla 1**).
- Pipetear 100 µL de los estándares (**Tabla 2**) .
- Añadir 100 µL de diluyente de muestras (**Tabla 3**) a los pocillos de blanco.
- Añadir 90 µL de diluyente de muestras (**Tabla 3**) a los pocillos de la muestra.
- Añadir 10 µL de las muestras prediluidas a los pocillos de la muestra.
- Preparar el conjugado de biotina (**Tabla 4**).
- Añadir 50 µL de conjugado de botina a todos los pocillos.
- Cubrir e incubar 2 horas (18-25°C) en un agitador.
- Preparar la streptavidina-HRP (**Tabla 5**).
- Vaciar y lavar 4 veces los pocillos con tampón de lavado.
- Añadir 100 µL de la estreptavidina-HRP a todos los pocillos.

- Cubrir e incubar 1 hora (18-25°C) en un agitador.
- Vaciar y lavar 4 veces los pocillos con tampón de lavado.
- Añadir 100 µL de sustrato a todos los pocillos.
- Incubar 30 minutos (18-25°C) controlando la absorbancia a 620 nm.
- Añadir 100 µL de solución de parada a todos los pocillos cuando la absorbancia este entre 0,9 y 1.
- Medir la absorbancia a 450 nm.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el software estadístico R, versión 4.0.3.

En primer lugar, se realizó el test Shapiro-Wilk para comprobar si la distribución estadística se correspondía a una distribución normal o si, por el contrario, se trataba de una distribución no paramétrica. En el caso de la distribución normal se describieron los resultados con los valores de n, la media y la desviación estándar (SD). En el caso de la distribución no paramétrica se utilizó la n, la mediana y los percentiles al 25 y 75%. Sin embargo, en las tablas se representan todos los parámetros mencionados con fines informativos.

Se realizó un análisis comparativo de las distintas variables presentes en nuestro estudio mediante al paquete *compareGroups*, en R versión 4.0.3. La comparación de variables categóricas tales como los tratamientos con psicofármacos frente al sexo se utilizó el test Chi-cuadrado. Para variables continuas como la RBP4, conforme al resultado del test de Shapiro-Wilk, se compararon los valores de RBP4 en dos grupos mediante el test t-student para variables con distribución estadística normal o mediante el test de la U de Wilcoxon Mann Whitney para variables no paramétricas. Para la comparación de más de dos grupos, como el índice de masa corporal, se utilizó el análisis de la varianza de un factor (ANOVA) o el test de Kruskal-Wallis. Se rechazó la hipótesis nula para los valores de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 Descripción de la cohorte

La cohorte estuvo compuesta por 74 pacientes, de los cuales eran 43 hombres (58,11%) y 31 mujeres (41,89%).

Además de diferenciar entre sexos, las variables utilizadas para describir nuestra cohorte fueron los niveles de RBP4, la edad, talla, peso e índice de masa corporal (IMC) (**Tabla 6**).

Tabla 6. Descripción de los pacientes de la cohorte.

		Media	SD	p25	Mediana	P75	P valor
RBP4 (nmol/mL)	Hombres	1,71	0,44	1,40	1,70	1,97	0,316
	Mujeres	1,61	0,44	1,32	1,48	1,89	
Edad (años)	Hombres	45,6	11,7	30,0	46,0	54,0	0,023
	Mujeres	52,0	9,03	47,2	53,0	58,0	
Talla (cm)	Hombres	172	12,1	169	173	177	<0,001
	Mujeres	160	7,19	158	160	164	
Peso (Kg)	Hombres	86,8	23,3	69,9	82,6	96,9	0,006
	Mujeres	72,5	14,1	64,2	71,6	84,4	
IMC (Kg/m ²)	Hombres	28,7	7,06	23,3	27,6	32,3	0,417
	Mujeres	29,2	4,60	25,9	27,7	32,2	

4.2 Tratamiento con psicofármacos de los pacientes

A continuación, desde la **Tabla 7** hasta la **Tabla 10** se muestran los distintos grupos de fármacos administrados a todos los pacientes pertenecientes a la cohorte mencionada previamente.

Tratamiento con neurolépticos

El 95% de los hombres y el 100% de las mujeres recibieron tratamiento con neurolépticos (Tabla 7).

Tabla 7. Pacientes en tratamiento con neurolépticos.

Neuroléptico	Hombres	Mujeres
No	2 (4.65%)	0 (0.00%)
Si	41 (95.3%)	31 (100%)

Los neurolépticos más utilizados fueron clozapina (31 pacientes), haloperidol (22 pacientes) y aripiprazol y risperidona (14 pacientes cada uno) (Figura 5).

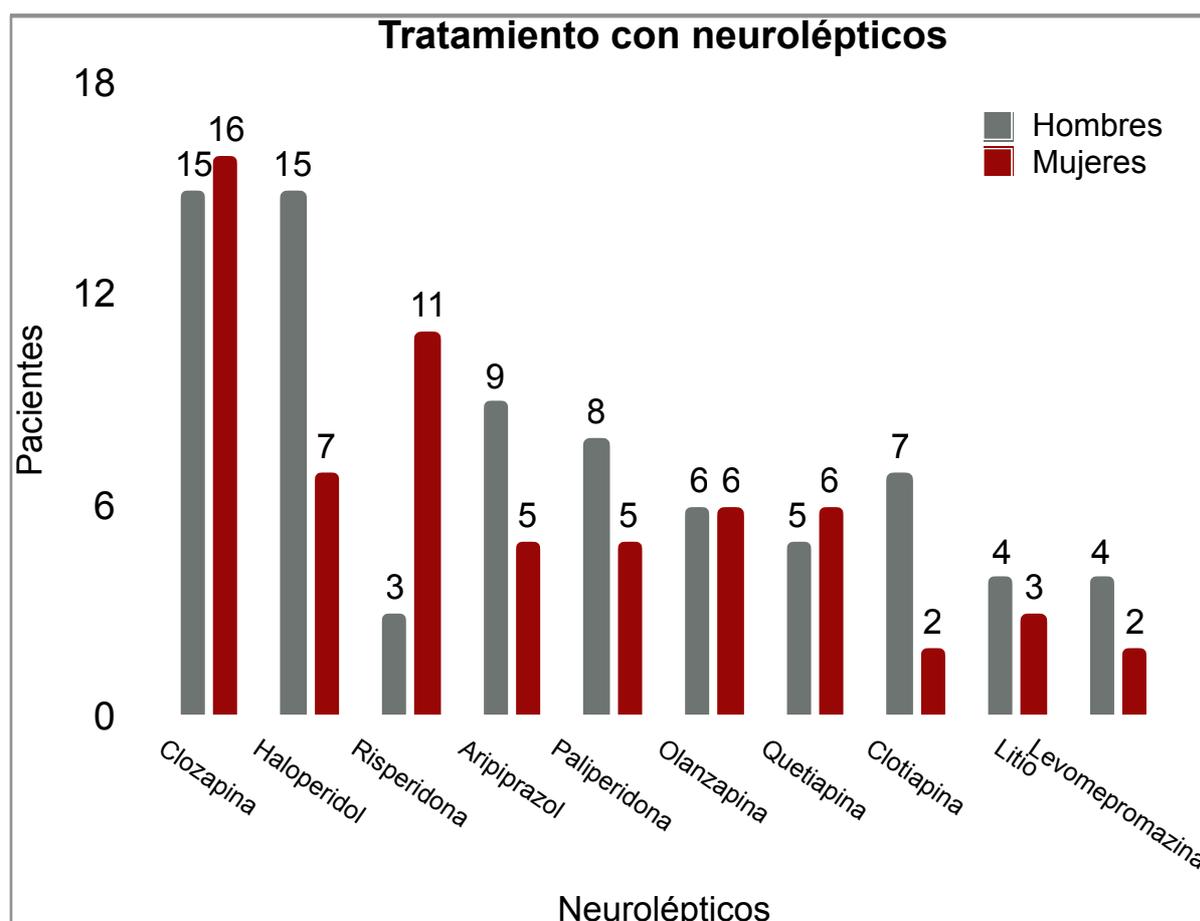


Figura 5. Pacientes con tratamiento de los distintos neurolépticos

Tratamiento con anticonvulsivos

El 58% de los hombres y el 52% de las mujeres recibieron tratamiento con anticonvulsivos (**Tabla 8**).

Tabla 8. Pacientes en tratamiento con anticonvulsivos.

Anticonvulsivo	Hombres	Mujeres
No	18 (41.9%)	15 (48.4%)
Si	25 (58.1%)	16 (51.6%)

El anticonvulsivo más utilizado con diferencia es el ácido valproico, con un total de 32 pacientes (**Figura 6**).

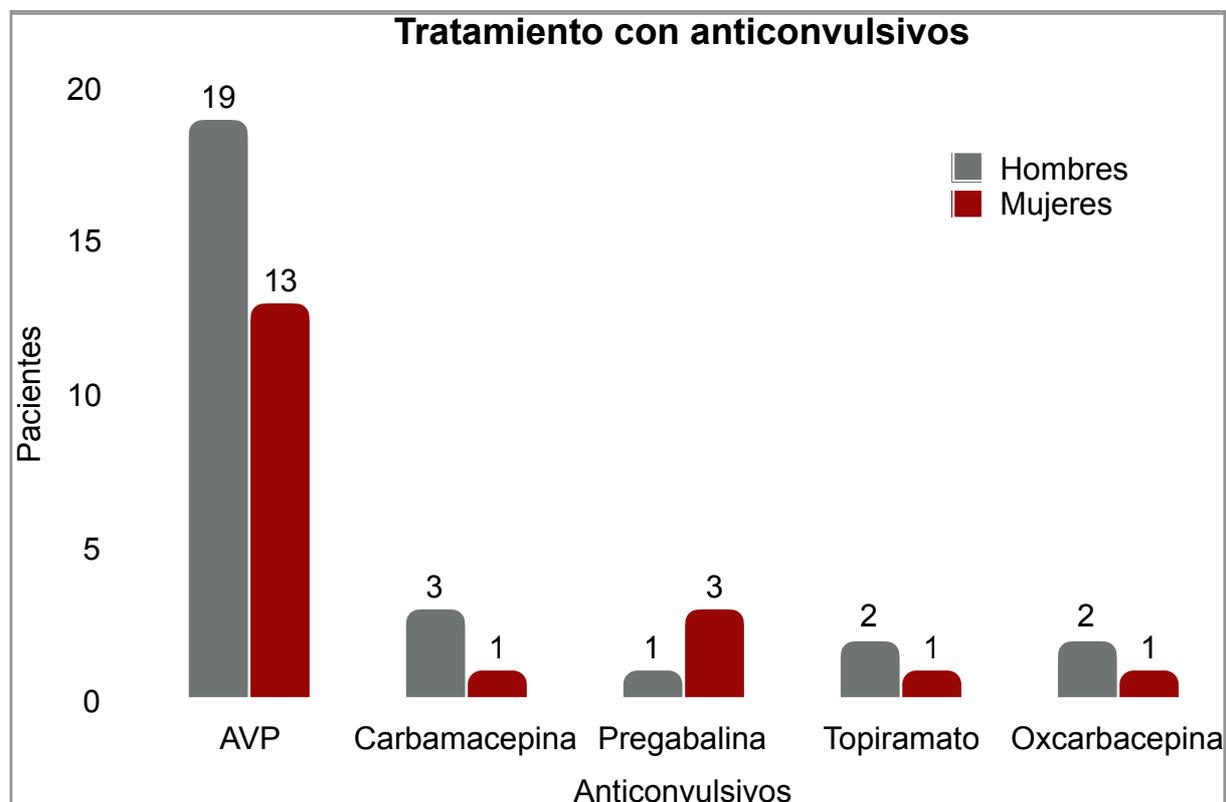


Figura 6. Pacientes con tratamiento de los distintos anticonvulsivos

Tratamiento con antidepresivos

El 19% de los hombres y el 23% de las mujeres recibieron tratamiento con antidepresivos (**Tabla 9**).

Tabla 9. Pacientes en tratamiento con antidepresivos.

Antidepresivo	Hombres	Mujeres
No	35 (81.4%)	24 (77.4%)
Si	9 (18.6%)	7 (22.6%)

Destacar los dos antidepresivos más utilizados que son la fluoxetina (7 pacientes) y la sertralina (4 pacientes) (**Figura 7**).

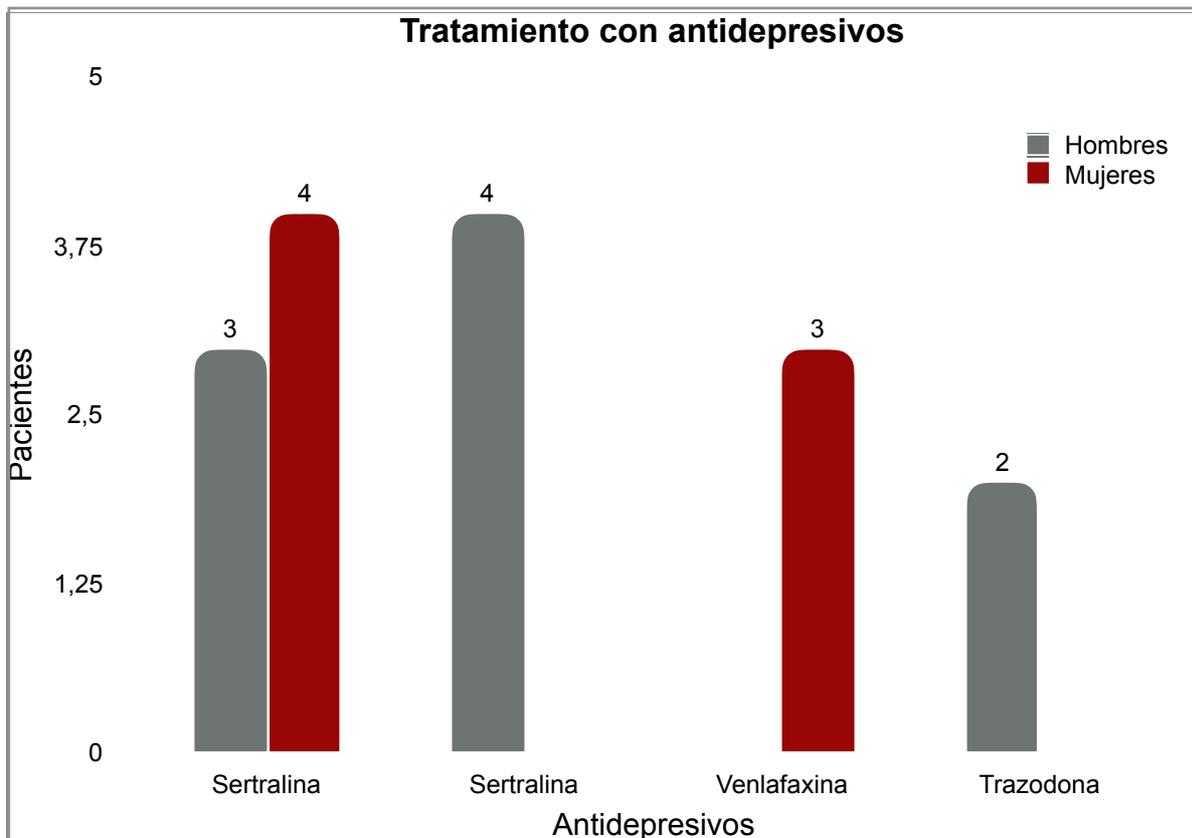


Figura 7. Pacientes con tratamiento de los distintos antidepresivos

Tratamiento con ansiolíticos

El 53% de los hombres y el 71% de las mujeres recibieron tratamiento con ansiolíticos (**Tabla 10**).

Tabla 10. Pacientes en tratamiento con ansiolíticos.

Ansiolítico	Hombres	Mujeres
No	20 (46.5%)	9 (29.0%)
Si	23 (53.5%)	22 (71.0%)

Los ansiolíticos más utilizados fueron el clonazepam (21 pacientes) y Diazepam (13 pacientes) (**Figura 8**).

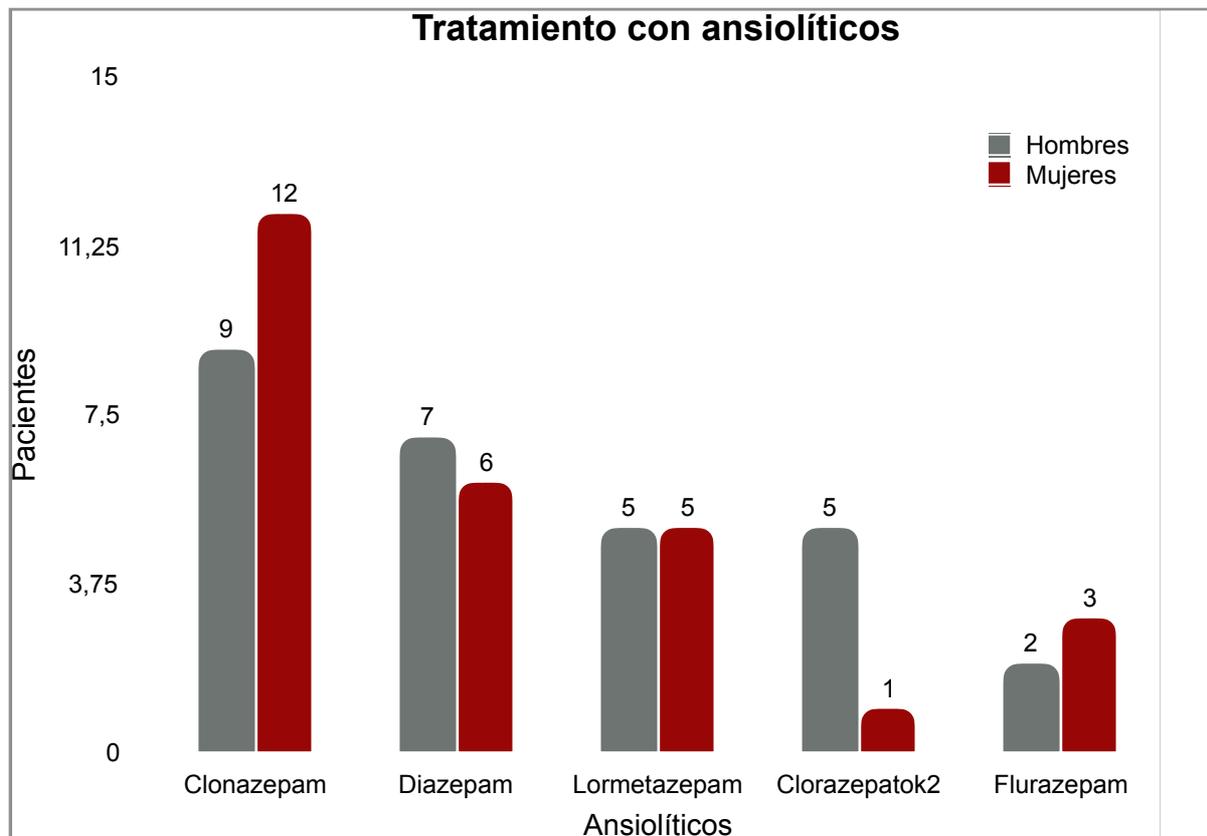


Figura 8. Pacientes con tratamiento de los distintos ansiolíticos.

4.3 Factores de riesgo del síndrome metabólico

En relación a los distintos factores de riesgo asociados al síndrome metabólico, el 43% de los hombres y el 55% de las mujeres estaban en programa frente a la ganancia de peso (**Tabla 11**).

Tabla 11. Pacientes incluidos en un programa frente a la ganancia de peso

Programa peso	Hombres	Mujeres
No	24 (57.1%)	14 (45.2%)
Si	18 (42.9%)	17 (54.8%)

El 19% de los hombres y el 45% de las mujeres estaban en un programa frente a la dislipidemia (**Tabla 12**).

Tabla 12. Pacientes incluidos en un programa frente a la dislipidemia.

Programa dislipidemia	Hombres	Mujeres
No	34 (81.0%)	17 (54.8%)
Si	8 (19.0%)	14 (45.2%)

El 19% de los hombres y el 23% de las mujeres estaban en un programa frente a la hipertensión arterial (**Tabla 13**).

Tabla 13. Pacientes incluidos en un programa frente a la hipertensión arterial.

Programa HTA*	Hombres	Mujeres
No	33 (80.5%)	24 (77.4%)
Si	8 (19.5%)	7 (22.6%)

*HTA = Hipertensión arterial

Finalmente, el 5% de los hombres y el 16% de las mujeres estaban en un programa frente a la diabetes tipo 2 (**Tabla 14**).

Tabla 14. Pacientes incluidos en un programa frente a la diabetes tipo 2.

Programa DT2*	Hombres	Mujeres
No	40 (95.2%)	26 (83.9%)
Si	2 (4.8%)	5 (16.1%)

*DT2 = Diabetes tipo 2

4.4 Efectos del tratamiento con ácido valproico sobre los niveles de RBP4

La media de los niveles de RBP4 fue 1,67 nmol/mL (Tabla 15)

Tabla 15. Niveles medios de RBP4 de la cohorte.

Pacientes	N	Media	SD	p25	Mediana	P75
Total	74	1,67	0,44	1,34	1,57	1,96

El tratamiento con ácido valproico (en 32 pacientes del total, 44,4%) se asoció a mayores niveles de RBP4 (1,83 nmol/mL) frente a los pacientes que no recibían un tratamiento con este fármaco (n = 42, 56,6%, 1,55 nmol/mL). Las diferencias entre ambos grupos muestran una significación estadística con un p-valor igual a 0,007 (Figura 9).

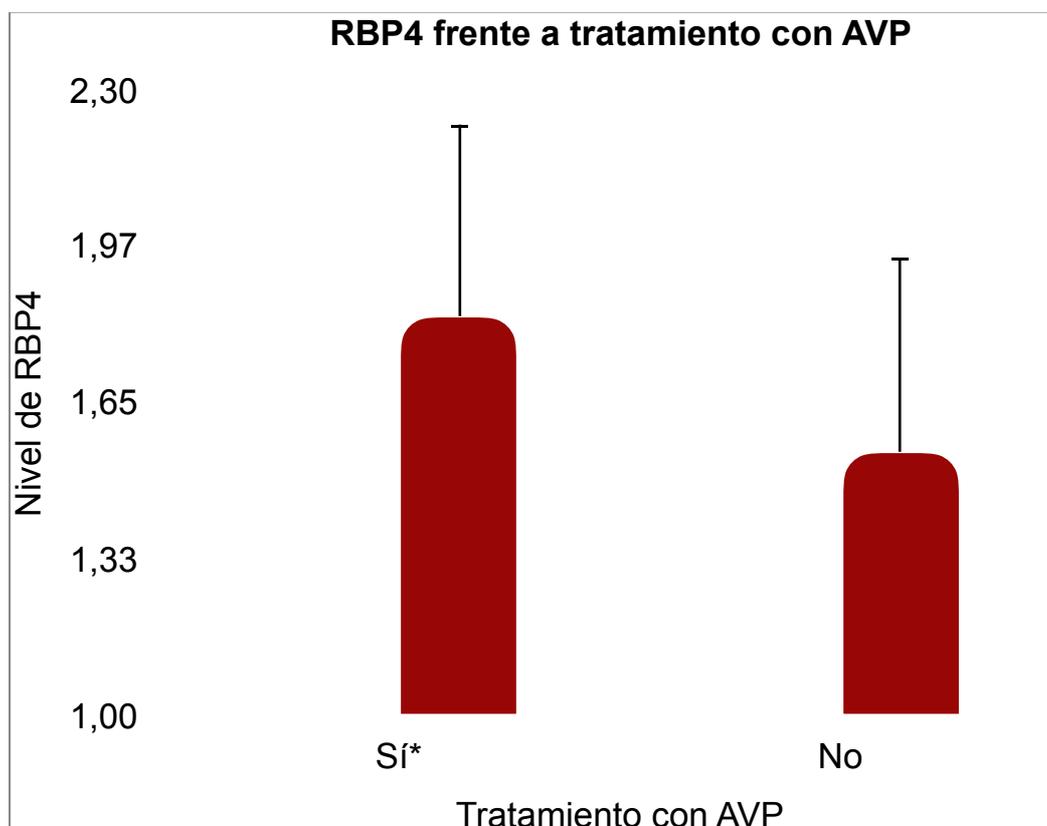


Figura 9. Niveles de RBP4 en relación a la presencia o ausencia de tratamiento con ácido valproico (AVP). *p-valor = 0,007

4.5 Niveles de RBP4 asociados a factores del síndrome metabólico

A continuación, se muestran los distintos niveles de RBP4 asociados a los elementos más comunes del síndrome metabólico encontrados en este trabajo (índice de masa corporal, peso y dislipidemia).

Índice de masa corporal (IMC)

La media de los niveles de RBP4 para el paciente de bajo peso (n = 1, 1,4%) fue de 1,07 nmol/ml. En el caso de los pacientes de normopeso (n = 17, 23,6%) y sobrepeso (n = 26, 36,1%) estaban ambos alrededor de 1,60 nmol/mL y finalmente para los pacientes con obesidad (n = 28, 38,9%) se encontraba en 1,80 nmol/mL. Estas diferencias, al contrario que en el caso anterior, no muestran una tendencia significativa (p-valor = 0,152) (**Figura 10**).

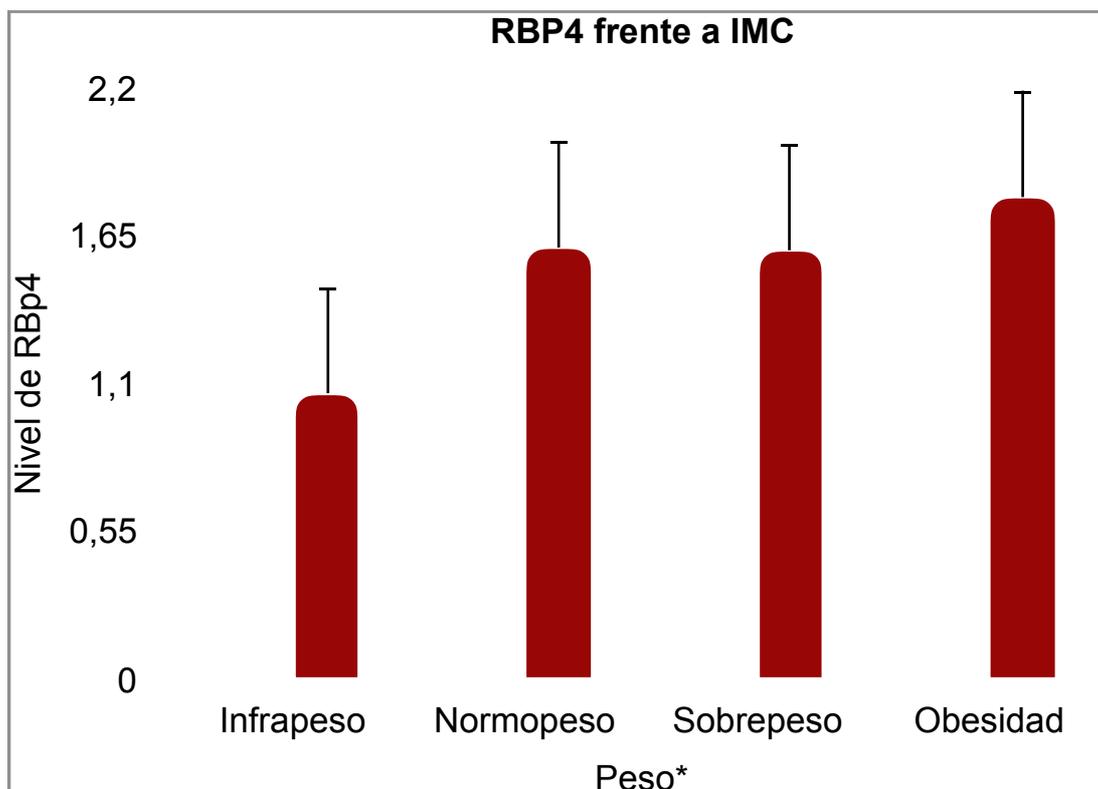


Figura 10. Niveles de RBP4 asociados al índice de masa corporal del paciente.

*p-valor = 0,152

Tratamiento frente al peso

El nivel de RBP4 en pacientes no incluidos en un programa frente a la ganancia de peso (n = 38, 52,1%) estaba en 1,63 nmol/mL frente a los pacientes que sí estaban incluidos en dicho programa (n = 35, 47,9%) que se situaba en 1,71 nmol/mL. Estas diferencias, no muestran una tendencia significativa (p-valor = 0.534) (**Figura 11**).

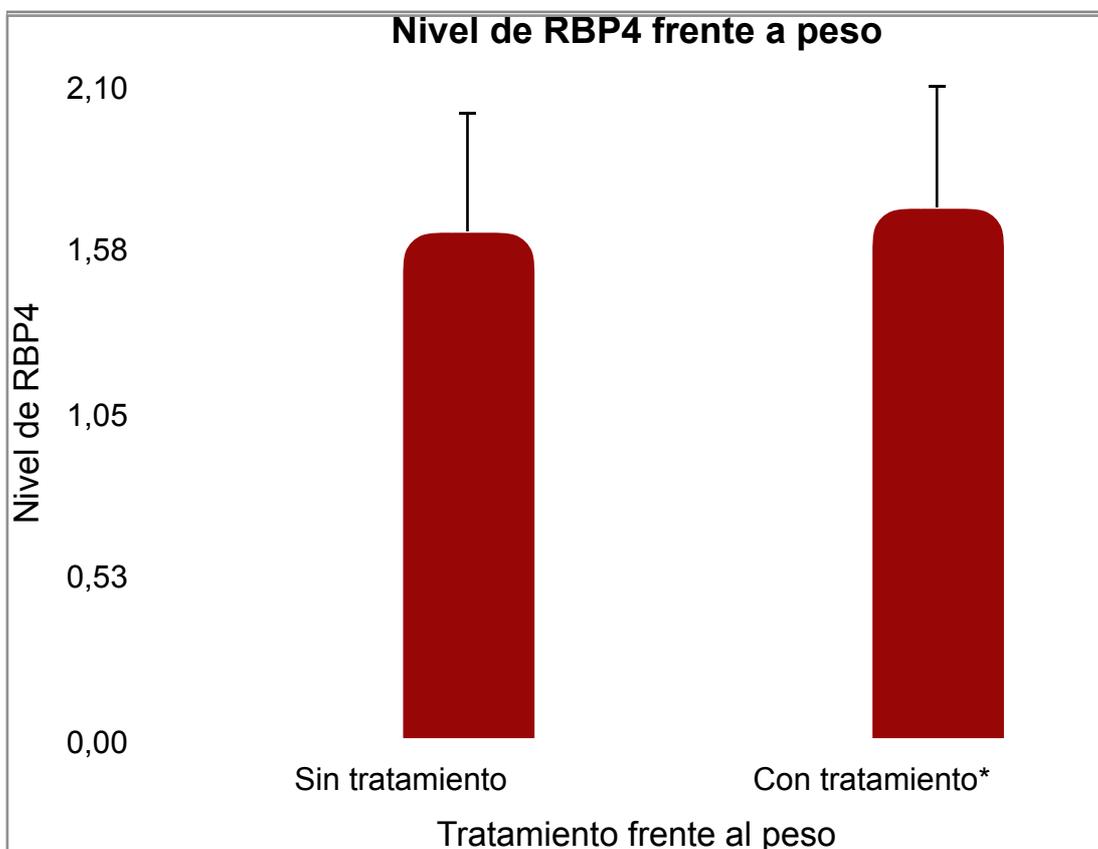


Figura 11. Niveles de RBP4 en relación a la presencia o ausencia de tratamiento frente al peso. *p-valor = 0,534

Tratamiento frente a la dislipidemia

El nivel de RBP4 en pacientes no incluidos en un programa frente a la dislipidemia (n = 51, 69,8%) estaba en 1,62 nmol/mL frente a los pacientes que sí estaban incluidos en el programa (n = 22, 30,2%) que se situaba en 1,76 nmol/mL. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de RBP4 (p-valor = 0.302) (Figura 12).

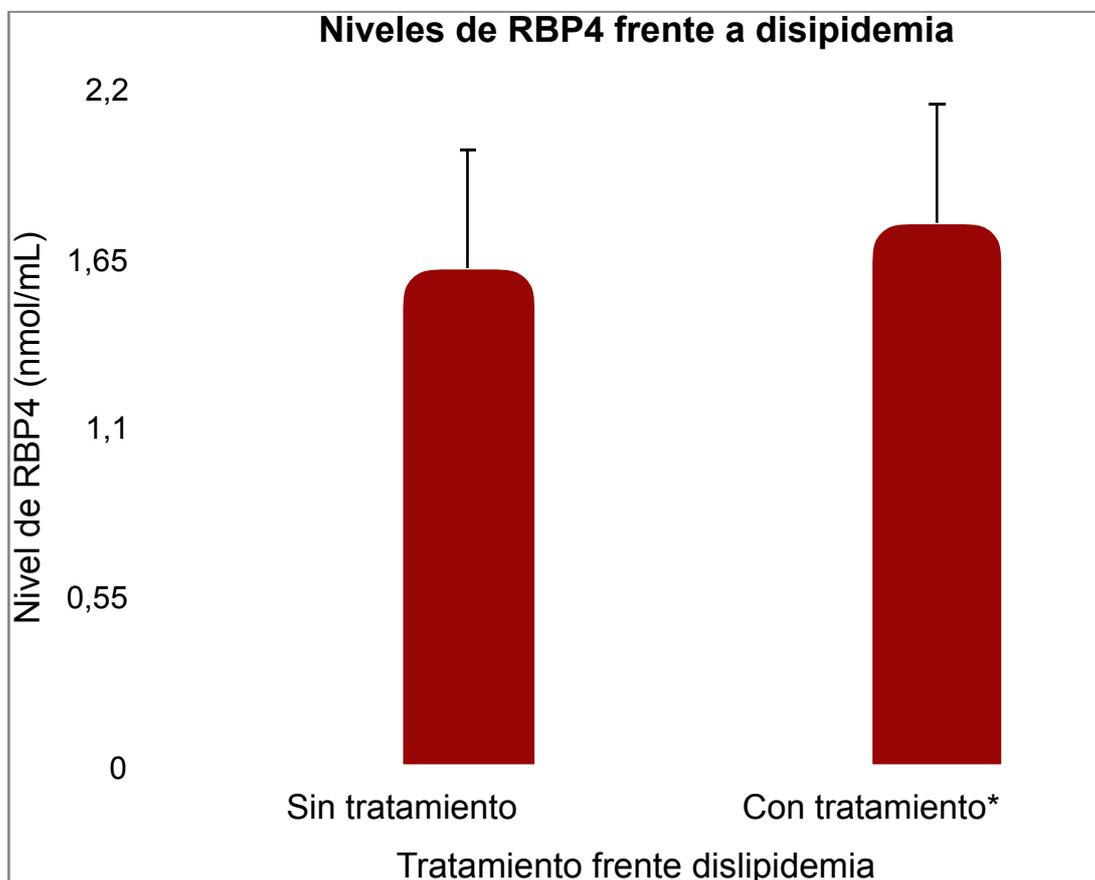


Figura 12. Niveles de RBP4 en relación a la presencia de tratamiento frente a la dislipidemia. *p-valor = 0,302

Finalmente, se muestra una tabla a modo de resumen de todos los datos obtenidos de los niveles de RBP4 asociados a los distintos factores mencionados anteriormente (ácido valproico, programa frente a peso, programa frente a la dislipidemia e índice de masa corporal) (**Tabla 16**).

Tabla 16. Resumen de los niveles de RBP4 (nmol/mL) en relación a los factores asociados al síndrome metabólico.

Factor		N	Media	SD	p25	Mediana	P75
Ácido valproico P = 0,007	NO	42	1,55	0,40	1,29	1,48	1,80
	SI	32	1,83	0,44	1,54	1,85	2,02
Tratamiento peso P = 0,534	NO	38	1,63	0,41	1,33	1,54	1,96
	SI	35	1,71	0,48	1,34	1,61	1,88
Tratamiento dislipidemia P = 0,302	NO	51	1,62	0,38	1,33	1,56	1,91
	SI	22	1,76	0,54	1,38	1,63	1,96
IMC* P = 0,152	Bajopeso	1	1,07	-	1,06	1,06	1,06
	Normopeso	17	1,61	0,39	1,36	1,55	1,90
	Sobrepeso	26	1,60	0,39	1,32	1,53	1,83
	Obesidad	28	1,80	0,48	1,48	1,83	2,09

*IMC = Índice de masa corporal

5. DISCUSIÓN

5.1 Cohorte de estudio

El Centro Socio Asistencial Dr. Esquerdo, para el estudio y tratamiento de los trastornos mentales, se sitúa en el municipio de Sant Joan d'Alacant, y se aprueba en pleno de la Diputación Provincial de Alicante, a día 4 de Junio de 1998, al transformarse el antiguo Sanatorio Psiquiátrico de Alicante (Centro Doctor Esquerdo, 2020).

El centro se basa en atender pacientes con patología mental crónica y subaguda grave, enfocando su trabajo en la rehabilitación psicosocial y clínico-sanitaria. Las distintas unidades de rehabilitación que se pueden encontrar en el centro, además de la atención sanitaria que se ofrece a los pacientes, diseñan planes individuales de trabajo para cada uno de ellos, mediante programas específicos e individuales que puedan mejorar su capacidad en las distintas habilidades que se ven afectadas a causa de la enfermedad. Algunos de los programas son: psicoeducación de adultos, habilidades sociales, estimulación cognitiva, inestabilidad emocional, resolución de conflictos, prevención de recaída en consumo de diversos tóxicos, hábitos de vida saludable, ocio y tiempo libre, cuidado personal, relación con el entorno, diabetes, hipertensión, hiperlipemias, control de peso y algunos mas asociados a la mejora de las competencias y habilidades, que les permitan recuperarse para la sociedad (Martinez-Lazcano et al., 2015).

5.2 Tratamiento con psicofármacos

En nuestra cohorte de estudio, los grupos de psicofármacos más utilizados son 3, que corresponden con neurolépticos, ansiolíticos y anticonvulsivos. Centrándonos en la comparativa entre los más utilizados de nuestra cohorte y en otras distintas, podemos observar que, en primer lugar, en el caso de los neurolépticos, destacamos la clozapina, el haloperidol y la risperidona, siendo estos algunos de los más utilizados en distintas cohortes, como es el caso de la risperidona, ya que su utilización se asocia con un riesgo bajo de rehospitalización (Lähteenvuo et al.,

2018). Sin embargo, según este mismo estudio el litio es el neuroléptico más utilizado debido a sus mejores resultados, a diferencia de nuestra cohorte.

En relación a los ansiolíticos, despiden las benzodiazepinas, como son el clonazepam y el diazepam, siendo los más utilizados también en numerosas cohortes (Corma-Gómez et al, 2019).

Finalmente, en el grupo de los anticonvulsivos destacamos el ácido valproico, siendo este ampliamente utilizado en nuestra cohorte como un estabilizador del ánimo, al igual que en numerosas otras, utilizándose fuera de indicación, es decir, se prescribe fuera de las indicaciones terapéuticas que han sido aprobadas en la ficha técnica del medicamento, coincidiendo así con lo publicado en otros estudios (Medrano et al, 2009; Roehr, 2012; Horowitz et al., 2014)

Todos estos fármacos pueden llegar a provocar efectos secundarios, como alteraciones hormonales y trastornos metabólicos, algunos relacionados con los elementos del síndrome metabólico (Belcastro et al., 2013). Actualmente existen evidencias que sugieren que el uso crónico de algunos antipsicóticos de segunda generación pueden provocar obesidad, debido al aumento de peso inducido por el incremento de los niveles de leptina (Meyer, 2007), o se asocian a otras complicaciones de la diabetes tipo 2, la cetoacidosis diabética (Stahl et al., 2009) y el síndrome hiperosmolar (Cortés, 2011).

En base a los resultados obtenidos de los niveles de RBP4, se destaca la influencia que tiene el ácido valproico (VPA) sobre los elementos del síndrome metabólico, asociándose en un primer lugar a una ganancia de peso, ya es uno de los principales problemas presentes en pacientes con epilepsia (10-70%) que abarca el uso de VPA tanto en niños como adultos (Novak et al., 1999; Verrotti et al., 1999, 2002, 2010; Hamed et al., 2009). Concretamente en un estudio realizado por Privitera et al., 2003, se comprobó un aumento de peso de 2.0 Kg en adultos y 5.0 Kg en adultos que recibían VPA, demostrando también que se asociaba a una mayor ganancia de peso en mujeres que en hombres (Stephen et al., 2001; Hamed et al., 2009; Kanemura et al., 2012). Además, en un estudio realizado por Carmona et al., se concluyó significativamente que aquellos pacientes que más VPA tomaban al día eran los que desarrollaban obesidad y podían llegar a sufrir síndrome metabólico

(Carmona et al., 2015). Añadir brevemente, que el mecanismo por el cual el VPA produce esta ganancia de peso todavía es un tema a discutir, pero la teoría más utilizada es una posible desregulación del sistema hipotalámico (Belcastro et al., 2013).

Se destaca también la aparición de hiperinsulinemia (Belcastro et al., 2013), en pacientes que han sido tratados con VPA después de una ganancia de peso (Verrotti et al., 1999; Stephen et al., 2001; Verrotti et al., 2002; Hamed et al., 2009). Por lo tanto, es probable que la ganancia de peso inducida por VPA sea la causa de la hiperinsulinemia y la resistencia a insulina (Verrotti et al., 2010).

Finalmente, se muestra en diversos estudios una asociación entre la utilización de VPA y un aumento del riesgo de sufrir síndrome metabólico (de Almeida et al., 2012; Verrotti et al., 2010), al estar asociado a los distintos elementos comentados anteriormente. Se observa en diversos estudios que el síndrome metabólico representa un serio problema de salud y se ha informado una alta prevalencia en pacientes con trastorno bipolar que han sufrido una ganancia de peso significativa debido al tratamiento con VPA (de Almeida et al., 2012), y remarcando que aquellos que desarrollan obesidad y están siendo tratados con VPA tienen mayor riesgo de sufrir síndrome metabólico que aquellos que son únicamente obesos (Fang et al., 2012).

5.3 Efectos del tratamiento con psicofármacos en los niveles de RBP4

El uso de psicofármacos se ha asociado a elementos del síndrome metabólico, los cuales hemos comentado anteriormente, pero también se asocian a un aumento de los niveles de RBP4 en suero de pacientes (Rauchenzauner et al., 2012), al igual que muestran los datos obtenidos en este estudio al asociar el VPA con los niveles de RBP4.

En el estudio de Rauchenzauner et al., se observa que los pacientes tratados con VPA muestran un aumento del 18% en los niveles de RBP4 en suero, en comparación con aquellos pacientes pertenecientes al grupo control que no recibían ningún tratamiento, aunque el índice de masa corporal no difirió entre ambos grupos.

Sin embargo, este resultado no alcanzó una significación estadística, probablemente debido al pequeño tamaño muestral del estudio, ya que únicamente se contaba con 16 pacientes tratados con VPA, respecto a 9 pacientes incluidos en el grupo control. (Rauchenzauner et al., 2012).

En otro estudio realizado en embriones de pollo, se administró una dosis alta de VPA, obteniendo una disminución aproximada del 38% en los niveles de RBP4, afirmando que esta proteína era la más significativamente alterada en presencia de ácido valproico (Chuang et al., 2012).

La obtención de estos resultados pudo deberse a diversos factores, como que se trataba de embriones de pollo y no humanos, o que se realizaban las mediciones en todo el organismo y no únicamente en suero. Además, cabe remarcar que la disminución de los niveles de RBP4 pudo ser resultado de la administración de dosis elevadas de VPA ya que esto puede inducir un daño en el hígado reduciendo así la síntesis hepática de RBP4 (Xu et al, 2019).

Como bien hemos podido comprobar en este trabajo, si que se obtienen unos resultados estadísticamente significativos al relacionar la administración de ácido valproico en los pacientes de nuestra cohorte con sus niveles de RBP4, pero salvo la comunicación breve con escaso tamaño muestral mencionada previamente, no se ha investigado la posible relación entre RBP4 y VPA. Debido a esto, se le atribuye un valor añadido a la relevancia de este trabajo.

5.4 Efectos de los elementos del síndrome metabólico en los niveles de RBP4

Hemos comentado la relación entre los psicofármacos, y más concretamente el AVP, con el desarrollo de los distintos elementos del síndrome metabólico, así como el aumento de los niveles de RBP4, por lo que cabe preguntarse si existe una posible relación entre el aumento de los niveles de RBP4 y la aparición del síndrome metabólico.

Pues bien, los niveles de RBP4 en plasma parecen estar ligados al sobrepeso, la diabetes mellitus tipo 2, la resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares. Aunque en este estudio, no se han observado diferencias significativas, sí que se aprecia una cierta tendencia a relacionar ambos aspectos.

Según un primer estudio realizado por Yang et al., 2005, donde se midieron los niveles de RBP4 en pacientes con obesidad, se encontró un aumento de estos respecto al grupo control. En este mismo estudio, se midieron los niveles de insulina en ratones transgénicos que expresaban la RBP4 humana, obteniendo unos niveles de insulina más elevados en los ratones alimentados con RBP4-Tg en comparación con los ratones de tipo silvestre, lo que indicaba una resistencia a la insulina (Yang et al., 2005).

Seguidamente, y a raíz de los resultados observados en el estudio anterior, un año más tarde se demostró que la RBP4 sérica elevada se asociaba con componentes del síndrome metabólico, incluido el aumento del índice de masa corporal, el índice cintura/cadera, los niveles séricos de triglicéridos, la presión arterial sistólica y la disminución de los niveles de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (Graham et al., 2006).

Por otro lado, y una vez asociados estos elementos con los niveles de RBP4, Stefan et al., 2007 volvió a obtener una relación entre estos y una resistencia a insulina, siendo además el primer estudio asociándose con la adiposidad, observándose que unos niveles altos de RBP4 en plasma no estaban asociados con la grasa abdominal corporal total, visceral o subcutánea ni con los depósitos de grasa ectópica en el músculo, pero que sí se asocian específicamente con una acumulación de grasa ectópica en el hígado, baja sensibilidad a la insulina en todo el cuerpo, baja depuración de insulina y posiblemente baja sensibilidad a la insulina hepática en humanos (Stefan et al., 2007).

Finalmente, en un estudio realizado por Xia et al., se observaba que los niveles de RBP4 en plasma humano en pacientes con síndrome metabólico generalmente aumentaban y se informó de una concentración plasmática de 20 µg / mL de RBP4 en humanos delgados normales, en comparación con unas concentraciones

plasmáticas de 40-90 $\mu\text{g} / \text{mL}$ de RBP4 en pacientes que eran obesos y diabéticos (Xia et al., 2013).

Sin embargo, no en todos los estudios realizados se encuentra una asociación entre el aumento de los niveles de RBP4 y el desarrollo de los diversos elementos del síndrome metabólico, como es el caso de Kotnik et al., donde se afirmó que aunque la RBP4 es una adipoquina asociada con la adiposidad y con los distintos elementos del síndrome metabólico, no se observaba una causalidad entre ambos (Kotnik et al., 2011).

A pesar de esto, cada vez son más recientes los estudios que se basan en asociar estos elementos, y que si indican una relación entre los niveles de RBP4 circulantes en sangre con factores de riesgo metabólicos y cardiovasculares pertenecientes al síndrome metabólico (Liu et al., 2017; Olse y Blomhoff, 2020; Steinhoff et al., 2021)

5.5 Limitaciones del estudio

Nuestro estudio, tiene un diseño de corte transversal, ya que es relativamente económico y se puede realizar en un espacio corto de tiempo, identificando eficazmente factores de riesgo (Alvarez-Hernández y Delgado-DelaMora, 2015). Sin embargo, se puede apreciar una serie de desventajas, como el inconveniente de aportar datos de un momento único en el tiempo, es decir, si se examina a la misma población en otro momento, los resultados obtenidos pueden ser diferentes o su imposibilidad para hacer inferencias de causalidad, debido a la ambigüedad temporal que se presenta al medir simultáneamente la exposición y la enfermedad (Alvarez-Hernández y Delgado-DelaMora, 2015).

Por otro lado, respecto al tamaño muestral de nuestro estudio, sería conveniente aumentar la cantidad de pacientes presentes para poder realizar asociaciones más valiosas en los diferentes aspectos de nuestro estudio.

Finalmente, mencionar la posibilidad de realizar un análisis multivariante con variables de ajuste, para evaluar de manera mas robusta la asociación estadística

6. CONCLUSIONES

1. Los tratamientos más comúnmente utilizados en nuestra cohorte fueron los neurolépticos clozapina, haloperidol y risperidona, los ansiolíticos clonazepam y diazepam y el anticonvulsivo ácido valproico utilizado como estabilizador del ánimo en pacientes con trastorno mental grave.

2. La cohorte presenta elementos del síndrome metabólico compatibles con los efectos secundarios de los psicofármacos, de acuerdo a la literatura científica.

3. La administración de ácido valproico se asoció a un aumento en los niveles de RBP4, indicativo de enfermedades metabólicas, en suero de pacientes con trastorno mental.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abosi O, Lopes S, Schmitz S, Fiedorowicz JG. (2018) Cardiometabolic effects of psychotropic medications. *Horm Mol Biol Clin Investig* 10;36(1)
- A.E.N. Rehabilitación psicosocial del trastorno mental grave. Situación actual y recomendaciones. Cuaderno Técnico No 6 A.E.N., 2002.
- Alberti, K.G., Zimmet, P., Shaw, J. (2006). Metabolic syndrome - a new world-wide definition. A consensus statement from the international Diabetes Federation. *Diabet. Med.* 23, 469-480
- Aldenkamp, A., Vigevano, F., Arzimanoglou, A., Covanis, A. (2006). Role of valproate across the ages. Treatment of epilepsy in children. *Acta Neurol. Stand.* 184, 1-13
- Álvarez-Hernández G, Delgado-DelaMora J (2015) Diseño de Estudios Epidemiológicos. I. El Estudio Transversal: Tomando una Fotografía de la Salud y la Enfermedad. *Bol Clin Hosp Infant Edo Son.* 32(1):26-34.
- Angulo, P. (2002) Nonalcoholic fatty liver disease. *N. Engl. J. Med.* 346, 1221-1231
- Arreguín, A. (2017). Nuevos mecanismos y biomarcadores de la interacción de la vitamina A con el metabolismo lipídico y energético y su papel en la programación metabólica (Tesis doctoral) Universitat de les Illes Balears
- Artigue J, Tizón J.L. (2014) Una revisión sobre los factores de riesgo en la infancia para la esquizofrenia y los trastornos mentales graves del adulto. *Atención Primaria.* 46; 336-356
- Belcastro V, D'Egidio C, Striano P, Verrotti A. (2013) Metabolic and endocrine effects of valproic acid chronic treatment. *Epilepsy Res.* 107(1-2):1-8
- Blomhoff R, Green MH, Green JB, Berg T, Norum KR. (1991) Vitamin A metabolism: new perspectives on absorption, transport, and storage. *Physiol Rev.* 71(4):951-90.
- Blomhoff R, Blomhoff H. (2006) Overview of retinoid metabolism and function. *Journal of neurobiology.* 66(7):606-30.
- Burton, B.S. (1882). On the propyl derivatives and decomposition products of ethylacetoacetate. *Am. Chem. J.* 3, 385 - 395
- Carmona CR, Ruiz M, Peña DM, Díaz L, Greenawalt S. (2015). Prevalencia de obesidad y síndrome metabólico en pacientes pediátricos con epilepsia tratados en monoterapia con ácido valproico. *Revista de neurología.* 61(5);193-201
- Castañón YA y Mayet ML. (2013). Teratogénesis por retinoides: El caso de México. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas,* 44(1), 24-32

- Centro Doctor Esquerdo. (2020, 14 julio). Diputación de Alicante
 Disponible en: <https://www.diputacionalicante.es/areas/centro-doctor-esquerdo/>
- Choong, M.K., and Tsafnat, G. (2012). The implications of biomarker evidence for systematic reviews. *BMC medical research methodology* 12, 176.
- Chuang CM, Chang CH, Wang HE, Chen KC, Peng CC, Hsieh CL, Peng RY. (2012) Valproic Acid Downregulates RBP4 and Elicits Hypervitaminosis A-Teratogenesis — A Kinetic Analysis on Retinol/Retinoic Acid Homeostatic System. *PLoS ONE*. 7(9)
- Colantuoni, V., Romano, V., Bensi, G., Santoro, C., Costanzo, F., Raugei, G., Cortese, R. (1983). Cloning and sequencing of a full length cDNA coding for human retinol-binding protein. *Nucleic acids research*, 11(22), 7769–7776.
- Corma-Gómez A, López-Sepúlveda R, Capitán I, Sánchez MD, López-Hernández B. (2019) Consumo de psicofármacos y exposición a toxinas bacterianas vehiculizadas por alimentos: una asociación peligrosa. *Gac Sanit*. 33(3). 249-254
- Cortés B. (2011) Síndrome metabólico y antipsicóticos de segunda generación. *Rev. Asoc. Esp. Neuropsiq*. 31 (110), 303-320.
- de Almeida, K.M., Moreira, C.L., Lafer, B. (2012). Metabolic syndrome and bipolar disorder: what should psychiatrists know? *CNS Neurosci. Ther*. 18, 160-166
- Demir E, Aysun S. (2000). Weight gain associated with valproate in childhood. *Pediatr Neurol*. 22(5):361-4.
- Documento de consenso sobre rehabilitación e integración social de las personas con trastorno mental grave. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales. Secretaría General de Asuntos Sociales. Instituto de Migraciones y Servicios sociales. 2003
- El-Khalib, F., Rauchenzauner, M., Lechleitner, M., Hoppichler, F., Naser, A., Waldmann, M. (2007). Valproate, weight gain and carbohydrate craving: a gender study. *Seizure*. 16, 226-232
- Fajardo, A., Olmos, F., Sarmiento, L. (2012). Valproic acid and the risk of perioperative bleeding. Case report and literature review. *Revista colombiana de anestesiología*. 41(1):61–64
- Fang, J., Sihan S., Nanwei T., Lan C., Dongmei An., Jie M., Dong Z. (2012). Metabolic syndrome among Chinese obese patients with epilepsy on sodium valproate. *Seizure:the journal of the British Epilepsy Association*. 21. 578-82.
- Feigin, A. (2004). Evidence from biomarkers and surrogate endpoints. *NeuroRx : the journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics* 1, 323-330.
- Fernández JM., Armario JC. (2003). Retinoides en dermatología. *Med Cutan Iber Lat Am*; 31(5): 271-294

- Gonçalves, P., Araújo, J. R., & Martel, F. (2015a). Antipsychotics-induced metabolic alterations: Focus on adipose tissue and molecular mechanisms. *European Neuropsychopharmacology*, 25(1), 1–16.
- Graham TE, Yang Q, Bluher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, et al. (2006) Retinolbinding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med*. 354:2552–63.
- Greco, R., Latini, G., Chiarelli, F., Iannetti, P., and Verrotti, A. (2005). Leptin, ghrelin, and adiponectin in epileptic patients treated with valproic acid. *Neurology* 65, 1808–1809.
- Hamed SA, Fida NM, Hamed EA. (2009). States of serum leptin and insulin in children with epilepsy: risk predictors of weight gain. *Eur J Paediatr Neurol*. 13(3):261-8
- Horowitz E, Bergman LC, Ashkenazy C, Moscona-Hurvitz I, Grin-vald-Fogel H, Magnezi R. (2014) Off-Label Use of Sodium Valproate for Schizophrenia. *PLOS ONE*. 9
- Jin H, Meyer JM, Mudaliar S, Jeste DV. (2007) Impact of Atypical Antipsychotic Therapy on Leptin, Ghrelin, and Adiponectin. *Schizophrenia research*; 100(1-3),70-85.
- Kanemura H, Sano F, Maeda Y, Sugita K, Aihara M. (2012) Valproate sodium enhances body weight gain in patients with childhood epilepsy: a pathogenic mechanisms and open-label clinical trial of behavior therapy. *Seizure*. 21(7), 496-500.
- Kantoush MM, El-Shahawy AK, Sokker SS, Serag HR. (1998) Effects of treatment with antiepileptic drugs on serum lipid profile in epileptic children. *Alex J Pediatr*. 12:153–8.
- Kessler RC, Amminger GP, Aguilar-Gaxiola S, Alonso J, Lee S, Ustun TB. (2007) Age of onset of mental disorders: a review of recent literature. *Curr Opin Psychiatry*.20; 359-364.
- Koksal GM. (2012) Oxidative stress and its complications in human health. *Adv Biosci Biotechnol*. 3(8):1113–5.
- Kotnik P, Fischer-Posovszky P, Wabitscj M. (2011) RBP4: a controversial adipokine. *European Journal of Endocrinology*. 165. 703-711
- Lähteenvuo M, Tanskanen A, Taipale H, Hoti F, Vattulainen P, Vieta E, Tiihonen J. (2018) Real-world Effectiveness of Pharmacologic Treatments for the Prevention of Rehospitalization in a Finnish Nationwide Cohort of Patients With Bipolar Disorder. *JAMA Psychiatry*. 1;75(4):347-355
- Lihn AS, Pedersen SB, Richelsen B. (2005). Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obes Rev*. 6(1):13-21.

- Liu Y, Zhong Y, Chen H, Wang D, Wang M, Ou JS, (2017). Retinol-binding protein-dependent cholesterol uptake regulates macrophage foam cell formation and promotes atherosclerosis. *Circulation*. 135:1339–54.
- Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, McCullough AJ, Natale S, Forlani G, Melchionda N. (2001). Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes*. 50(8):1844-50.
- Martinez-Lazcano MT, Esplá-González S, Herraiz P, Hernández P, Chillerón R, Pol E. (2015) Uso de ácido valproico en unidades de psiquiatría de estancia prolongada. *Farmacia Hospitalaria*. 39(2). 92-101
- Medrano J, Pacheco L, Zardoya MJ. (2009) Uso no autorizado de psicofármacos. El nuevo real decreto 1015/2009. *Norte de salud mental*. 35: 79-88.
- Meunier H, Carraz G, Neunier Y, Eymard P, Aimard M. (1963) Pharmacodynamic properties of N-dipropylacetic acid. *Therapie*. 18, 435-8.
- Meyer JM, (2007) Antipsychotic Safety and Efficacy Concerns. *J Clin Psychiatry*; 68
- Mikkonen K, Knip M, Pakarinen AJ, Lanning P, Isojärvi JI, Vainionpää LK. (2005). Growth and lipid metabolism in girls and young women with epilepsy during pubertal maturation. *Epilepsia*. 46(7), 1114-20.
- Muirhead L, (2014) Cancer Risk Factors Among Adults with Serious Mental Illness. *American Journal of Preventive Medicine*. 46; 98-103.
- Murray C, Lopez A. (2002) World Health Report: Reducing Risks, Promoting Healthy Life. Geneva, Switzerland: World Health Organization;
- Münzberg H, Myers MG Jr. (2005). Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nat Neurosci*. 8(5):566-70.
- Novak GP, Maytal J, Alshansky A, Eviatar L, Sy-Kho R, Siddique Q. (1999) Risk of excessive weight gain in epileptic children treated with valproate. *J Child Neurol* 14: 490– 495
- Olsen T, Blomhoff R. (2020) Retinol, Retinoic Acid, and Retinol-Binding Protein 4 are Differentially Associated with Cardiovascular Disease, Type 2 Diabetes, and Obesity: An Overview of Human Studies. *Adv Nutr*. 11(3):644-666.
- Pfahl M. The molecular mechanism of retinoid action. *Retinoids today and tomorrow*. *Retinoid Dermatol* 1996;44:2-6.
- Privitera MD, Brodie MJ, Mattson RH, Chadwick DW, Neto W, Wang S; EPMN 105 Study Group. (2003) Topiramate, carbamazepine and valproate monotherapy: double-blind comparison in newly diagnosed epilepsy. *Acta Neurol Scand*. 107(3):165-75
- Pylvanen V, Pakarinen A, Knip M, Isojarvi JI. (2006) Insulin-related metabolic changes during treatment with valproate in patients with epilepsy. *Epilepsy Behav* 8: 643– 648.

- Qiao L, Schaack J, Shao J. (2006) Suppression of Adiponectin Gene Expression by Histone Deacetylase Inhibitor Valproic Acid, *Endocrinology*. 147(2) 865–874
- Ramírez R.(2009). Proteína transportadora de retinol tipo 4 (RBP4) en la obesidad. (Tesis doctoral) Universitat Rovira i Virgili
- Rauchenzauner, M., Laimer, M., Wiedmann, M., Tschoner, A., Salzmann, K., Sturm, W., Sandhofer, A., Walser, G., Luef, G., Ebenbichler, C. F. (2013). The novel insulin resistance parameters RBP4 and GLP-1 in patients treated with valproic acid: Just a sidestep? *Epilepsy Research*, 104(3), 285–288.
- Roehr B. Abbott pays \$1.6bn for promoting off label use of valproic acid. (2012) *BMJ*. 344
- Sánchez, I. (2017). Alteración del sistema retinoide por exposición a xenobióticos. (Tesis doctoral) Universidad Miguel Hernández
- Semba RD. On the 'discovery' of vitamin A. *Ann Nutr Metab*. 2012;61(3):192-8.
- Simpson GM. (2005). Atypical antipsychotics and the burden of disease. *The American journal of managed care*. 11. 235–41.
- Stahl SM, Mignon L, Meyer JM. (2009) Which comes first: atypical antipsychotic treatment or cardiometabolic risk? *Acta Psychiatr Scand*. 119(3):171-9.
- Stefan N, Hennige AM, Staiger H, Machann J, Schick F, Schleicher E, (2007). High circulating retinol-binding protein 4 is associated with elevated liver fat but not with total, subcutaneous, visceral, or intramyocellular fat in humans. *Diabetes Care*. 30:1173–8.
- Steinhoff JS, Lass A, Schupp M. (2021) Biological Functions of RBP4 and Its Relevance for Human Diseases. *Front Physiol*. 11;12
- Stephen LJ, Kwan P, Shapiro D, Dominiczak M, Brodie MJ. (2001). Hormone profiles in young adults with epilepsy treated with sodium valproate or lamotrigine monotherapy. *Epilepsia*. 42(8):1002-6.
- Theodosiou M, Laudet V, Schubert M (2010). From carrot to clinic: an overview of the retinoic acid signaling pathway. *Cellular and molecular life sciences*. 67(9):1423-45.
- Tienari P, Sorri A, Naarala M, Wahlberg K.E., Moring J, Pohjola J, Lahti I, Wynne L.C., (1987) Genetic and Psychosocial Factors in Schizophrenia: The Finnish Adoptive Family Study, *Schizophrenia Bulletin*. 13,3;477–484
- Trinka E, Hofler J, Zerbs A, Brigo F. (2014) Efficacy and safety of intravenous valproate for status epilepticus: a systematic review. *CNS Drugs* 28. 623–39.

- Verrotti A, Basciani F, Morresi S, De Martino M, Morgese G, Chiarelli F. (1999) Serum leptin changes in epileptic patients who gain weight after therapy with valproic acid. *Neurology* 53: 230– 232.
- Verrotti A, Basciani F, De Simone M, Trotta D, Morgese G, Chiarelli F. (2002) Insulin resistance in epileptic girls who gain weight after therapy with valproic acid. *J Child Neurol* 17: 256– 258.
- Verrotti A, la Torre R, Trotta D, Mohn A, Chiarelli F. (2009) Valproate-induced insulin resistance and obesity in children. *Horm Res* (3):125–31.
- Verrotti A, Manco, R., Agostinelli, S., Coppola, G., Chiarelli, F. (2010) The metabolic syndrome in overweight epileptic patients treated with valproic acid. *Epilepsia*. 51(2). 268-273
- Vossler DG, Wilensky AJ, Cawthon DF, Kraemer DL, Ojemann LM, Caylor LM. (2002) Serum and CSF glutamine levels in valproate-related hyperammonemic encephalopathy. *Epilepsia* 43. 154–9.
- Xia M, Liu Y, Guo H, Wang D, Wang Y, Ling W. (2013) Retinol binding protein 4 stimulates hepatic sterol regulatory element-binding protein 1 and increases lipogenesis through the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1beta dependent pathway. *Hepatology*. 58:564–75.
- Xu, S., Chen, Y., Ma, Y., Liu, T., Zhao, M., Wang, Z., & Zhao, L. (2019). Lipidomic Profiling Reveals Disruption of Lipid Metabolism in Valproic Acid-Induced Hepatotoxicity. *Frontiers in pharmacology*, 10, 819.
- Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, et al. (2005) Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature*. 436:356–62.

8. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer al Complejo Socio Asistencial Dr. Esquerdo por haberme permitido realizar mi estudio contando con sus pacientes e instalaciones, ya que sin su colaboración este trabajo no habría sido posible.

Al Prof. Javier Esteban Mozo, por brindarme la oportunidad de integrarme en el Laboratorio de Toxicología del Instituto de Bioingeniería y darme su confianza y la oportunidad de aprender y crecer en el ámbito de la investigación. Le estoy muy agradecido por todos sus consejos, tiempo y dedicación para orientarme durante este tiempo.

Al resto de equipo del laboratorio, en especial al doctorando Roger Ortiz, por hacerme el trabajo mas ameno y sencillo y por la ayuda prestada en todo momento.

Gracias