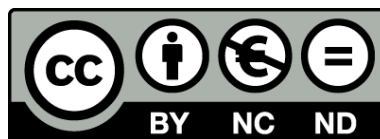




UNIVERSITAT DE
BARCELONA

**Genetic variation in serotonergic system genes:
vulnerability for major depression and
pharmacogenetics of response to SSRI antidepressants**

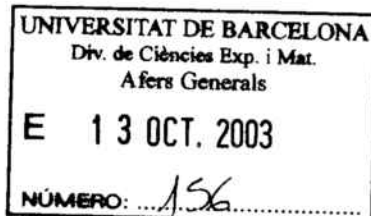
Bárbara Arias Sampériz



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – SenseObraDerivada 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – SinObraDerivada 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs 4.0. Spain License.**

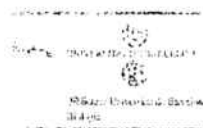


Departament de Biologia Animal
Unitat de Antropologia

**GENETIC VARIATION IN SEROTONERGIC SYSTEM GENES:
VULNERABILITY FOR MAJOR DEPRESSION AND PHARMACOGENETICS
OF RESPONSE TO SSRI ANTIDEPRESSANTS**

TESIS DOCTORAL

Bárbara Arias Sampériz



2003



UNIVERSITAT DE BARCELONA

U

B

Departament de Biologia Animal
Unitat de Antropologia

**GENETIC VARIATION IN SEROTONERGIC SYSTEM GENES:
VULNERABILITY FOR MAJOR DEPRESSION AND PHARMACOGENETICS
OF RESPONSE TO SSRI ANTIDEPRESSANTS**

Memoria presentada por Bárbara Arias Sampérez para optar al grado
de Doctor en Ciencias Biológicas

Esta tesis se ha realizado dentro del programa de Doctorado en Biología
Animal II: Antropología Biológica (bienio 1997-1999)

La Directora de la Tesis:

Lourdes Fañanás Saura

La Tutora:

Clara García Moro

Bárbara Arias Sampérez
Barcelona, Diciembre de 2003

Esta Tesis ha sido posible gracias a la subvención de diferentes proyectos de investigación:

- Ministerio de Educación y Ciencia (PM-98-0184)
- Fondo de Investigación Sanitaria. Ministerio de Sanidad y Consumo (FIS 00-0613)(2001-2002)
- Proyectos de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico (Ministerio de Ciencia y Tecnología) (SAF 2001-3400)
- Generalitat de Catalunya. Grup de Recerca Consolidat (1998 SGR00009, 2000 SGR 00096; 2001 SGR 00285)

Bárbara Arias ha recibido las siguientes becas personales:

- Bolsa de Estudios "Abelard Fàbrega" del *Institut d'Estudis Catalans*, 1999
- Becas de Formación de Personal Investigador, Programa Propio de la UB. Universitat de Barcelona (1 de octubre 2000 hasta la actualidad)
- Beca para la Investigación fuera de Cataluña BE99. (DOGC núm. 2866 de 13.4.1999). Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació de la Generalitat de Catalunya (1999).
- Universitat de Barcelona. Ayudas para realizar estancias cortas en el extranjero (2000/01-2001/02)

*By believing in his dreams,
a man turns them into reality.*

Hergé

AGRADECIMIENTOS:

¡Qué momento! Hacer balance de todo lo que me ha ocurrido durante estos años de tesis va a ser fácil, siempre positivo. Lo difícil va a ser desmenuzar los años en meses, los meses en semanas, y las semanas en el día a día. En fin, como siempre en la vida, ha habido de todo un poco. Sin embargo, sí quisiera destacar que durante todo este tiempo siento que he crecido como persona, que me he hecho mayor y, sobre todo, que he aprendido a disfrutar de las pequeñas cosas, de los pequeños momentos, de todo aquello que al final te queda en el corazón. Sé, perfectamente, que esto no se consigue sola; sé que sin todos vosotros, tanto los que formáis parte de mi vida cotidiana como los que habéis ido apareciendo circunstancialmente, llegar hasta aquí no hubiera sido posible.

Por eso, ahora, ha llegado el momento de manifestar mi agradecimiento, con humildad, y aunque sólo sea con palabras, por el apoyo recibido durante todo el camino, que ha sido mucho. ¡Va a ser difícil! Condensar en unas pocas páginas todo lo que he vivido y sentido durante estos años me va a saber a poco. Pero, bueno, vayamos paso a paso.

A la "culpable" de que haya llegado hasta aquí. Cuando me diste clases de Biología Humana, se hizo la luz en mi cerebro y decidí que quería investigar, y no sólo eso, sino que además, quería hacerlo contigo (ya sabes, soy Tauro!). Gracias Lourdes por la Oportunidad y por confiar en mí. He de reconocer que el trabajo ha sido duro, pero aprender a tu lado lo ha hecho todo mucho más fácil. Gracias, también, por ser, en muchas ocasiones, más amiga que "jefa" y porque con tu ayuda he podido superarme cada día un poquito más. Los límites contigo no tienen sentido.

A la gente que trabaja conmigo codo a codo, nunca mejor dicho. A mis compañeros que son desde hace mucho tiempo ya, mis amigos. A Blanca por estar siempre a mi lado, y no regatearme nunca ni cinco minutos de su tiempo. Por cuidarme y mimarme como una hermana, y a veces, incluso más. A Araceli, simplemente, por ser como eres. Por tu optimismo, por tu realismo y por hacerme ver la vida de una manera diferente y mejor. A Sergi, el chico, callado y observador, siempre a punto para "engazar" lo que haga falta. Muchas gracias por aguantarme en los momentos de crisis, has conseguido que incluso sean divertidos. A Mar, que entró directa en mi corazón. Porque sé que siempre estarás a mi lado, y porque aún nos quedan por compartir muchas historias. A Neus, que poco a poco se ha ido haciendo un hueco, y porque ya que lo tienes hecho, espero que te quedes mucho tiempo. A Marc, por ese humor que debería utilizar más a menudo. A Bea, por haber tenido siempre un pensamiento para mí. A Jordi y a Laia por haber compartido los últimos momentos de la tesis conmigo. Un recuerdo especial, con mucho cariño, a los "respectivos", a Jorge, a Sandra, a Jordi y a Roger, por poner su granito de arena.

Gracias, a mis otros compañeros, los de al lado, con los que he compartido desayunos, comidas, cenas y celebraciones, vamos casi una vida!. A Marc, Rolo, Mireia, Silvina, Toni, Joel, Emili, Esther, Neus V., Natalia, Jordi G, Meritxell, Neus, Marta y Carles. Algunos de lo mejores momentos los he pasado con vosotros, y alguno de los malos también. Estoy muy contenta de que hayáis estado conmigo estos años, habéis sido unos excelentes compañeros de viaje.

A los profesores de la Unitat, a Pedro Moral, a Clara García Moro, a Miquel Hernández y a Txomin Toja. No puede faltar un recuerdo muy especial al Dr. Pons, por sus ganas de vivir y de aprender algo cada día, por sus anécdotas y sus chistes, por tener siempre una palabra amable para todo el mundo.

A la otra mitad, a la gente de la Pompeu. Gracias a Jaume Bertranpetit por su cariño, a David, a Anna, a Eva, a Francesc, a Elena, a Aida, a Jordi C, a Mónica, a Anna G, a Stephanie y a todas las nuevas incorporaciones. Me gusta saber que estáis ahí y que se puede contar con vosotros.

A Laura, Yolanda y Eva, con las que empecé la carrera y con las que hablaba de nuestros sueños y metas, aún nos quedan muchos por cumplir todas juntas. Gracias por estar ahí, quizás no en primera línea, pero siempre a mi lado.

A mis otros amigos, los que no tienen que ver nada con la ciencia, pero han hecho un esfuerzo por entenderme y por disfrutar conmigo todo el proceso, y, por supuesto, a los que han ido apareciendo a lo largo del camino. A M^a Luisa, por ser la que más lo ha "disfrutado", por estar en prácticamente todos los momentos, los buenos y los malos, tu "visión" de las cosas, en ciertas ocasiones, ha sido insuperable. A Ana y a Nacho, con los que sé que siempre podré contar, de eso no tengo ninguna duda. A Sergi, que apareció en un momento clave de mi vida y que por esa razón, y por otras muchas que he ido descubriendo, se ha hecho un hueco en ella. A Jordi Marrón, mi padre adoptivo, muchas gracias por estar allí y, sobre todo, por ser mi amigo. A David Comas, simplemente por estar. A la generación OT, a Araceli, a David y a Jordi porque ¿qué buenos momentos hemos pasado los lunes por la noche, no? (lo siento, me hubiera parecido feo no hacer una mención especial)

A Cristóbal Gastó, a Rosa Catalán y a Luis Pintor, gracias por ayudarme a tener un punto de vista mucho más humano de la enfermedad mental. Los ratos que he pasado con vosotros han sido siempre productivos y divertidos. Con vosotros he aprendido el significado de la palabra "multidisciplinar", ha sido un placer.

Gracias, también, a los pacientes y a sus familiares. Sin su generosidad y su colaboración desinteresada, ni éste, ni ningún otro estudio sería posible

No puedo olvidar, tampoco, el tiempo que he pasado en Londres. La primera vez fue algo dura, la segunda, como si estuviera en casa. Eso no hubiera sido posible si no hubiera habido un montón de gente cuidándome y mimándome. Gracias a Blanca y a Jorge, mis primeros padres adoptivos, la toma de contacto con el mundo anglosajón fue mucho más fácil con vosotros a la vuelta de la esquina. A David Collier con quien trabajé la primera vez. A M^a Jesús, gruñona, divertida, cariñosa, desprendida, siempre a punto cuando la he necesitado. Espero, algún día, repetir la experiencia. A la gente del laboratorio, que me acogieron como una más, gracias a Dalu por su paciencia extrema conmigo y a Helen por las horas de cotilleo. A los "Joses", a Patricia, a Roberto, a Anusha, a Mike y a todos los demás con los que, además de compartir poyata, compartí muchas comidas en el "fantástico" comedor del hospital y alguna que otra tarde de viernes en el pub. Y, por supuesto, a Ana, "the crazy one" y una amistad para siempre.

Y finalmente, a mi familia que ha estado y siempre estará incondicionalmente a mi lado. Han vivido mis alegrías, mis éxitos, mis fracasos, mi no siempre buen humor, y me han hecho llegar hasta aquí. Muchas de nuestras ilusiones se destruyeron un abril, pero juntos estamos intentando salir indemnes.

A mi padre, la entereza personificada, por ser un ejemplo a seguir. Gracias por tu fe ciega en mí, y por haber hecho que todo sea un poquito más "fácil". A mis hermanos, cuando los repartieron me quedé con los mejores. A Marian, una gran persona y una gran amiga. Gracias por tu paciencia, tu comprensión y tu cariño. Tenerte a mi lado me ha dado y me da mucha seguridad. A Lolo, por tu gran corazón, a veces me gustaría que vivieras más cerca para poder compartir más cosas contigo. Me ha gustado ser vuestra hermana mayor aunque, he de reconocer que, en la mayoría de los casos me habéis cuidado más vosotros a mí que yo a vosotros. A Rosi y a Toni, quienes, a estas alturas, también son como mis hermanos.

Por último, a la persona que fue y seguirá siendo. Siempre. Mi eje vital. Mi madre. Sé que, estés donde estés, viajes hacia donde viajes, estarás orgullosa de mí y, aunque te llevo en el corazón, preferiría que estuvieras aquí, disfrutando este momento tan importante conmigo, a mi lado. Te echo de menos. Te quiero. ¡Esto va por ti!

INDICE

I. INTRODUCCIÓN

1. Tristeza y Depresión	1
2. Depresión Mayor	4
2.1. Introducción a la definición clínica del trastorno depresivo mayor	
2.2. Diagnóstico basado en los criterios DSM-IV (APA, 1994)	
3. Epidemiología de la Depresión Mayor	20
4. Curso y pronóstico del Episodio Depresivo	26
5. El Tratamiento de la Depresión	29
5.1 Terapia farmacológica	32
5.1.1 Antidepresivos tricíclicos (ATCs)	
5.1.2 Inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAOs)	
5.1.3 Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRSs)	
5.1.4 Otros fármacos antidepresivos	
5.1.5 Fármacos antidepresivos y periodo de latencia en la respuesta	
5.2 Psicoterapia	44
5.3 Terapia Electroconvulsiva (TEC)	46

II. ETIOPATOGENIA Y DEPRESIÓN - I

1. Fisiopatología de la depresión: Hipótesis biológicas actuales	51
1.1 Sistema serotoninérgico y Sistema Nervioso Central	54
1.2 Hipótesis de la disfunción serotoninérgica en depresión: un contexto para la presente tesis	70
1.3 Sistema serotoninérgico, variación genética y depresión	74
1.4 Genes candidatos analizados en la presente Tesis	81

III. ETIOPATOGENIA Y DEPRESIÓN II: FACTORES GENÉTICOS DE INTERÉS EN LA DEPRESIÓN

1. Genética de la depresión (En: Depresión Estado Actual. Fundación Valenciana de Estudios Avanzados. Pp 63-104) 89
2. Introducción a la Farmacogenética de la depresión mayor 133

IV. OBJETIVOS 147

V. MUESTRA Y MÉTODO

1. Muestra 155
2. Diseño de un estudio caso-control 162
3. Diseño de un estudio de farmacogenética 165
4. Análisis moleculares 167
5. Análisis estadísticos 171

VI. RESULTADOS

a. Vulnerabilidad genética y depresión 175

Capítulo 1. Variability in 5-HT_{2A} serotonin receptor gene is associated with seasonal pattern in major depression.
Molecular Psychiatry, 6 (2): 239-242 (2001)

Capítulo 2. Genetic variation in the 5-HT_{5A} receptor gene and vulnerability to affective disorders: an association study.
Neuroscience letters 303 (2):111-114 (2001)

Capítulo 3. The 5-HT_{2A} receptor gene 102T/C polymorphism is associated with suicidal behaviour in depressed patients.
American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Section) 105:801-804. (2001)

Capítulo 4. Analysis of structural polymorphisms and C-1018G promoter variant of the 5-HT_{1A} receptor gene as putative risk factors in Major Depression.
Molecular Psychiatry 7 (9): 930-932 (2002)

b. Farmacogenética en la depresión: ISRS

199

Capítulo 5. 5-HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene predicts non-remission in major depression patients treated with citalopram in twelve weeks follow up study. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 23 (6) (2003).

Capítulo 6. Evidences for a combined genetic effect of the Serotonin Transporter and 5-HT_{1A} Receptor genes in the clinical outcome of major depressive patients treated with citalopram (en consideración editorial).

VII. DISCUSIÓN	229
VIII. CONCLUSIONES	245
IX. BIBLIOGRAFÍA	248

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

I. INTRODUCCION

2. Depresión mayor

Tabla 1. Tabla resumen de los síntomas relacionados con la depresión mayor.

Cuadro 1. Criterios DSM-IV para el diagnóstico de un Trastorno depresivo mayor

Cuadro 2. Criterios necesarios que el paciente debe cumplir para ser diagnosticado un episodio depresivo mayor.

Cuadro 3. Criterios que el paciente ha de cumplir, para que el psiquiatra considere que el episodio depresivo mayor cursa con síntomas de melancolía, según el DSM-IV.

Tabla 2. Resumen de los trastornos que presentan sintomatología depresiva pero que no son definidos como trastorno depresivo mayor.

Figura 1. Las fronteras de la depresión con otros trastornos mentales (adaptado de Peralta y Cuesta., 2002)

3. Epidemiología

Tabla 3. Factores de riesgo que podrían explicar las diferencias existentes en depresión mayor entre hombres y mujeres

Tabla 4. Resumen de la epidemiología y los factores de riesgo en depresión mayor

Tabla 5. Factores que podrían sugerir un riesgo incrementado de suicidio en un paciente con un episodio mayor.

5. El tratamiento de la depresión

Tabla 6. Medicaciones antidepresivas usadas más frecuentemente y dosis habituales diarias recomendadas

Tabla 7. Tipos de antidepresivos tricíclicos, usos recomendados y no recomendados en la clínica, y efectos secundarios provocados por estos fármacos.

Tabla 8. Tipos de IMAOs, usos recomendados y no recomendados en la clínica, y efectos secundarios provocados por estos fármacos.

Figura 2. Principales fármacos antidepresivos inhibidores de la recaptación de serotonina (ISRSs). Acción selectiva sobre receptores neuronales y sistemas metabolizadores enzimáticos

Tabla 9. Tipos de ISRSs, usos recomendados y no recomendados en la clínica, y efectos secundarios provocados por estos fármacos.

Tabla 10. Modalidades de psicoterapia utilizadas en depresión mayor

II. ETIOPATOGENIA Y DEPRESIÓN – I

1. Fisiopatología de la depresión: Hipótesis biológicas actuales

Figura 3. Sistema serotoninérgico

Figura 4. Síntesis de la serotonina. El enzima Triptofano hidroxilasa es el enzima clave y limitante de la síntesis de este neurotransmisor.

Figura 5. Representación gráfica de una sinapsis serotoninérgica. La serotonina, almacenada en vesículas, es vertida al espacio intersináptico donde se unirá a los diferentes receptores postsinápticos para la transmisión de la señal. La serotonina es inactivada por un mecanismo de recaptación hacia el interior de la neurona pre-sináptica

Figura 6. Representación esquemática de un receptor metabotrópico y su mecanismo de acción vía segundos mensajeros

Tabla 11. Resumen de los receptores serotoninérgicos en mamíferos. Función y localización en sistema nervioso central

Tabla 12. Resumen de las alteraciones monoaminérgicas más importantes descritas en pacientes con trastorno depresivo mayor

Figura 13. Representación esquemática de una neurona serotoninérgica. En la figura se indican algunos de los receptores y enzimas cuyos genes podrían ser considerados como genes candidatos para la depresión mayor.

Figura 14. Estructura del gen HTR1A y localización de todos los SNPs descritos hasta el momento. En color verde se muestran los SNPs que han sido validados, mientras que los que están en color marrón son polimorfismos que aún no están validados como tales.

Figura 15. Estructura del gen HTR2A, en azul se encuentran representados los tres exones, y en gris los intrones, donde, como se puede ver, se localizan la mayoría de los casi 150 SNPs caracterizados en este gen. Muchos de ellos todavía necesitan ser validados.

Figura 16. Estructura del gen HTR5A, en azul se encuentran representados los dos exones, y en gris el intrón. A lo largo del gen encontramos distribuidos los aproximadamente 125 SNPs que han sido descritos hasta el momento para este gen.

Figura 17. Representación esquemática del gen SLC6A4 y localización de los SNPs descritos hasta el momento.

III. ETIOPATOGENIA Y DEPRESIÓN II: FACTORES GENÉTICOS DE INTERÉS EN LA DEPRESIÓN

1. Genética de la Depresión (En: Depresión: Estado actual. Ed. F. Pallardó. Fundación Valenciana de Estudios Avanzados, 2002, pp. 63-104.)

Figura 1. Riesgo para trastorno bipolar y trastorno unipolar en la población general y entre los familiares de primer grado de pacientes afectados con trastorno bipolar y de pacientes afectados con trastorno unipolar.

Tabla 1. Algunas localizaciones cromosómicas en las que se ha estudiado el posible ligamiento con trastorno bipolar.

Tabla 2. Localizaciones cromosómicas en las que se ha descrito ligamiento con trastornos afectivos.

Figura 2. Cálculo del riesgo para una enfermedad compleja según la presencia de alelos o variantes genéticas de riesgo.

Tabla 3. Estudios de asociación basados en marcadores de DNA situados en genes candidatos para el trastorno bipolar. Los genes investigados se han agrupado según el sistema de neurotransmisión en el que están implicados.

Tabla 4. Estudios de asociación basados en marcadores de DNA situados en genes candidatos para la depresión mayor. Los genes investigados se han agrupado según el sistema de neurotransmisión en el que están implicados.

2. Introducción a la farmacogenética de la depresión mayor

Tabla 18. Lista de los fármacos antidepresivos y antipsicóticos que son metabolizados alguno de los enzimas más importantes del sistema P450

Tabla 19. Prevalencia de los fenotipos Metabolizador pobre (PM) y metabolizador ultrarrápido (UEM) para varios Citocromos P450 según raza/etnicidad.

Tabla 20. Estudios farmacogenéticos desarrollados recientemente en trastornos afectivos (Depresión Mayor –DM- y Trastorno bipolar –BP-) basados en la variabilidad genética asociada al gen del recaptador de serotonina (SERT) y la respuesta clínica, a corto y largo plazo, al tratamiento con antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRSs).

V. MUESTRA Y MÉTODO

1. Muestra

Tabla 21. Distribución de las variables sociodemográficas en las muestras de pacientes y controles seleccionados para este estudio

2. Diseño de un estudio caso-control

Tabla 22. Estimación del OR conferido por los alelos de riesgo (adaptación de {Gutierrez, 2000 #530}).

3. Diseño de un estudio farmacogenético

Figura 7. Diseño del estudio y protocolo del seguimiento a largo plazo de una muestra de pacientes diagnosticados de depresión mayor según criterios DSM-IV y tratados con citalopram.

4. Análisis genético

Tabla 23. Características y condiciones para la determinación de los polimorfismos analizados en el presente estudio

VII. RESULTADOS

c. Vulnerabilidad genética y depresión

Capítulo 1.

Table 1. Genotype and allele frequencies of the 5-HT2A-102-T/C polymorphism in patients with Major Depresión (MD), patines with both MD and seasonal pattern (MDS), patients with MD but non-seasonal pattern (N-MDS) and Controls.

Table 2. Distribution of clinical variables in patients with major depression according to the presence of seasonal pattern.

Capítulo 2.

Table 1. Clinical profile of the patients with Major Depression (DSM-IV) (MD) and Bipolar Disorder (DSM-III-R) (BP) included in the present study.

Table 2. Genotype and allele distribution of the -19G/C polymorphism in the 5-HT5A receptor gene in Spanish and British samples of Major Depression, Bipolar Disorder and Controls, and in German healthy population.

Table 3. Genotype and allele distribution of the 12A/T polymorphism in the 5-HT5A receptor gene in Spanish and British samples of Major Depression, Bipolar Disorder and Controls, and in German healthy population.

Capítulo 3.

Table 1. Genotype and allele frequencies of the 5-HT2A-102T/C polymorphism in patients with major depression and controls

Capítulo 4.

Table1. Genotype and allele frequencies of the 5-HT1A C-1018G polymorphism in patients with major depression and controls

d. Farmacogenética en la depresión: ISRS

Capítulo 5.

Table 1. Distribution of the genotypes of the 5-HTTLPRS polymorphism in 131 major depression patients and in 163 healthy controls. Patients subgroups were defined after considering clinical response at 4th week and remission at 12th week. A significant increase of S/S genotype was detected in the group of non Remission (chi squared=7.29, P=0.006; OR=3.23 IC95% (1.24-8.5))

Capítulo 6.

Figure 1. Clinical outcome of major depressive patients treated with citalopram during 12 weeks according to all the possible genotype combination of both 5-HTTLPR polymorphism (SLC6A4 gene) and -1018C/G variants (5-HT_{1A} gene) (F=2.89, P=0.02). Individuals presenting the combination S/S-G/G showed the worst outcome compared to patients non-carrying the risk genotype

Figure 2. Homozygous individuals for the SS-GG combination present a more severe index episode and score higher for all the HDRS punctuations along the 12 week follow up. These patients present a worse clinical outcome after citalopram treatment compared to the rest of patients carrying any other genotype (F= 7.64, P=0.007).

ABREVIATURAS

a.C.	Antes de Cristo
AC	Adenil ciclasa
ACTH	Corticotropina
ATC	Antidepresivos Tricíclicos
ATP	Adenosin trifosfato
DNA	Acido desoxiribonucléico
CIT	Citalopram
COMT	Catecolamin-O-metiltransferasa
CRH	Hormona liberadora de ACTH
CSM	Centro de Salud Mental
D ₃	Receptor de dopamina 3
D ₄	Receptor de dopamina 4
DAT	Transportador de dopamina
d.C.	Después de Cristo
DCT	Desmethycitalopram
D.E.	Desviación estándar
DME	Depresión mayor con patrón estacional
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
EM	Extensive metabolisers
G	Proteína G
GABRA	Receptor gabaérgico
HDRS	Hamilton Depressive Rating Scale
5-HIAA	Ácido 5-hidroxiindolacético
5-HT	Serotonina
5-HTP	5-hidroxitriptófano
5-HTTLPR	Serotonin transporter long polymorphic region
H1	Receptor histamínico 1
HHA	Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HTR1A	Gen del receptor de serotonina 5-HT1A
HTR2A	Gen del receptor de serotonina 5-HT2A
HTR5A	Gen del receptor de serotonina 5-HT5A
I.C.	Intervalo de confianza
IM	Intermediate metabolisers
IMAOs	Inhibidores de la monoamin oxidasa
ISRS	Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina

IRN	Inhibidores de la Recaptación de Norepinefrina
IRS	Inhibidores de la Recaptación de Serotonina
LCR	Líquido cefalorraquídeo
M1	Receptor muscarínico 1
MAO	Monoaminoxidasa
NaSSA	Noradrenergic and specific serotonergic antidepressant
N-DME	Depresión mayor sin patrón estacional
NDRI	Norepinephrine and dopamine reuptake inhibitor
NE	Norepinefrina
Ng/ml	nanogramos/mililitro
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds ratio
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
Pb	Pares de bases
p.ej.	Por ejemplo
PM	Poor metabolisers
SADS	Schedules for Affective Disorders and Schizophrenia
SARI	Serotonin antagonis and reuptake inhibitor
SERT	Transportador de serotonina
SLC6A4	Gen del transportador de serotonina
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Single nucleotide polymorphism
SNRI	Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor
TAE	Trastorno afectivo estacional
TEC	Terapia Electroconvulsiva
TH	Tirosina hidroxilasa
UEM	Ultra extensive metabolisers

I. INTRODUCCIÓN

Torna a quedarse solo con su caballo. La tristeza invade de nuevo, más dura, más cruel, su fatigado corazón. Observa a la multitud que pasa por la calle, como buscando entre los miles de transeúntes alguien que quiera escucharle. Pero la gente parece tener prisa y pasa sin fijarse en él.

Su tristeza a cada momento es más intensa. Enorme, infinita, si pudiera salir de su pecho inundaría el mundo entero.

La tristeza
Antón Chéjov

1. TRISTEZA Y DEPRESIÓN

En la vida diaria hay múltiples y diferentes motivos que provocan tristeza o melancolía, sinsabores durísimos, difíciles de aceptar: la muerte de un ser querido, un matrimonio fallido, una enfermedad. Estos acontecimientos son causa de un profundo dolor, que afortunadamente, no permanece en el tiempo.

Sabemos por experiencia que el dolor se olvida para poder seguir viviendo; el instinto de supervivencia se sobrepone a este sentimiento pero siempre quedará un poso de tristeza como fondo oscuro en respuesta a lo sufrido.

La tristeza "normal" es un sentimiento que se experimenta ante una gran diversidad de situaciones cotidianas cuyo denominador común suele ser por lo general, la pérdida de algo que puede ser más o menos importante. Se trata, en principio, de una experiencia psicológica corriente, un sentimiento habitualmente coherente con el hecho que lo ha desencadenado y con una intensidad y duración proporcionada a la situación que la ha provocado. La experiencia de la tristeza "normal" es un sentimiento fácilmente identificable, comunicable y reconocible, tanto para la persona que la siente como para la persona a la que se le comunica. En este sentido, es un sentimiento empático y relacional. Una persona que se siente

apenada o afligida puede contagiar estos sentimientos a otra persona, y ésta sentir el pesar de manera similar.

Sin embargo, la llamada tristeza "patológica" suele ser la expresión de una alteración profunda del estado de ánimo. Se caracteriza, en muchas ocasiones, por aparecer sin un motivo fácilmente identificable por el entorno de la persona y cuando existe la reacción suele ser desproporcionada al hecho desencadenante, lo que puede afectar de manera global el funcionamiento del individuo durante un periodo de tiempo superior al esperable.

La tristeza "patológica" es un sentimiento cualitativamente distinto de la "tristeza normal". Un enfermo deprimido puede ser incapaz de sentir tristeza por un acontecimiento que, en cualquier otro momento, le hubiera entristecido, lo cual le hace sentirse indigno y culpable. Por otra parte, este tipo de tristeza, suele acompañarse de una serie de manifestaciones en el ámbito cognitivo, somático y conductual. Por estas razones, en general, la tristeza "patológica" no es tan fácilmente comunicable y, de hecho, a no pocos pacientes con depresiones graves les cuesta expresar este sentimiento y en algunos casos incluso niegan sentirse tristes (Peralta and Cuesta, 2002).

Cuando los enfermos deprimidos expresan sus sentimientos, éstos son difícilmente comprendidos por otras personas ya que éstas no encuentran resonancias equivalentes en sus propias vivencias y experiencias. Por ello, un gran número de pacientes se quejan, y no sin razón, de que nadie comprende su estado.

"Deprimirse es como quedarse ciego: al principio la oscuridad va apareciendo de forma gradual, y poco a poco lo va envolviendo todo. Es como perder la audición: uno oye cada vez menos, hasta que se siente rodeado de un terrible silencio, y llega un momento en que no puede emitir sonido alguno para romperlo. Es como sentir que las ropas que llevamos puestas se convierten de modo paulatino en madera, y experimentar una rigidez en los codos y en las rodillas que poco a poco adquieren un peso terrible, hundiéndonos en una inmovilidad que nos aísla y nos atrofia y que al final nos destruye.

...

Estar vivo me provocaba un dolor permanente, y esa fuerza ominosa me había secado hasta tal punto que no tenía saliva en la boca ni lágrimas para llorar. Había supuesto que cuando uno peor se siente el llanto comienza a fluir, pero el dolor mayor es ese dolor árido y agudo que aparece después de que se han consumido todas las lágrimas, el dolor que cierra todos los espacios que permiten el acceso al mundo y viceversa"

Andrew Morton,
de su libro "El Demonio de la Depresión"

"La causa de su tristeza no era el hecho de que esas personas no se preocuparan por él, sino más bien una convicción más profunda: no era que él estuviese solo, sino que todo el mundo lo está"

"El cuarto de Jacob" Virginia Wolf

2. DEPRESIÓN MAYOR

El sentirse triste o desanimado es una experiencia comprensible e inevitable que se presenta muchas veces a lo largo de la vida de una persona. Normalmente somos capaces de entender y asumir por nosotros mismos estos sentimientos y seguir adelante. Sin embargo, en algunas personas estos sentimientos pueden ser muy intensos y mantenerse durante largas temporadas aunque no haya acontecimientos vitales que objetivamente los justifiquen; este estado afectará de manera importante al carácter y a las capacidades de la persona.

En general, podemos decir que las consecuencias de una depresión no resuelta siempre son graves tanto por el sufrimiento personal que suponen, como por los problemas y rupturas en las relaciones familiares y sociales que provocan. La persona deprimida no es capaz de superar por sí misma este estado y, evidentemente, en ningún caso se encuentra así por decisión propia, por "comodidad" o por "falta de voluntad". En realidad el individuo padece una enfermedad definida por criterios diagnósticos psiquiátricos estandarizados, la depresión mayor, que necesitará de la ayuda de un especialista y de un tratamiento médico adecuado para poder superarla.

Si bien actualmente se admite que la enfermedad mental en general, y la depresión en particular, tienen una base orgánica y deben tratarse en un contexto médico, en muchos momentos de la historia de la humanidad los trastornos mentales han sido atribuidos a fenómenos extranaturales.

Las primeras referencias a un origen natural de la depresión corresponden a Hipócrates (460-377 aC). En su obra *Corpus hippocraticum* se reconoce ya un *tipus melancholicus* inclinado a padecer una tristeza y desánimo persistentes, especialmente en primavera y en otoño. Hipócrates sustenta que la enfermedad mental se origina a partir de una patología cerebral que se produciría por un desajuste de los cuatro humores.

Esta aproximación natural al origen de la depresión se mantiene, igualmente, en la obra de Aristóteles (384-322 aC), y a lo largo de las civilizaciones griega y romana. De este periodo destacan autores como Arateo de Capadocia (30-90 dC) y Galeno (130-200 dC). Este último divide las causas de la enfermedad mental en orgánicas y mentales, incluyendo entre estos últimos aspectos de la vida cotidiana tales como los contratiempos económicos y los desengaños amorosos.



Casa de locos de Goya (1815-1819)

Con la obra de Galeno concluye una etapa caracterizada por la consideración natural, tanto teórica como terapéutica, de la enfermedad mental iniciándose un largo periodo de oscurantismo que se prolongará hasta el final de la Edad Media.

Durante el siglo XVII, aparecen figuras como Thomas Willis (1621-1675), quien en su obra se aproxima y describe, en profundidad, algunas de las características de la depresión.

Sin embargo, no es hasta el siglo XVIII cuando Pinel (1745-1826), y posteriormente su discípulo Esquirol (1772-1840), sitúan definitivamente al enfermo mental dentro de un sistema asistencial médico y definen la enfermedad mental

como una alteración funcional del sistema nervioso; estos autores llevarán a cabo el esbozo de las primeras clasificaciones médicas o nosológicas de estos trastornos. Con Esquirol se sustituye el concepto hipocrático de Melancolía por el de Lipemanía, considerándola una monomanía triste (delire exclusif). Esquirol deja la melancolía para los poetas, "que en su expresión no están obligados a la severidad de los médicos". La Lipemanía fue definida por este autor como una enfermedad cerebral caracterizada por un delirio parcial, crónico, sin fiebre y con síntomas pasionales tales como la triseza opresiva y debilitante.

En el transcurso del siglo XIX, países como Francia o Alemania aportan a la psiquiatría especialistas como Griensinger (1817-1868), Bailleger (1809-1890) o Falret (1794-1870). Estos autores llegan a convertirse en el centro del saber psiquiátrico de la época creando Escuelas que, por primera vez, definen el trastorno mental como una verdadera enfermedad somática cuya causa principal debe buscarse en alteraciones cerebrales. Esto autores fueron grandes críticos del concepto de Lipemania propuesto por Esquirol. En "De la no existence de la monomanie" (1854), Falret afirma que este concepto "hace que sea imposible trazar toda la línea de separación rigurosa entre la pasión y la locura". En 1851, Falret describe la melancolía periódica, y tres años después Baillarger la locura de doble forma, que el propio Falret definió como "locura circular". La enfermedad se caracterizaba por tres estadios bien diferenciados: una fase melancólica, un acceso maniaco, y un intervalo lúcido de duración variable. Ambos autores consideraron que esta enfermedad tenía un origen hereditario, era más frecuente en mujeres y presentaba una evolución espontánea previsible.

Una de las primeras taxonomías de la Melancolía se debe a Guislain (1852). Para este autor el elemento esencial de la enfermedad era la "lesión de un

sentimiento" (o de varios) supeditando, de esta manera, la facultad intelectual a la afectiva, idea que perdura hasta la actualidad. Sin embargo Guislain, como muchos de los autores posteriores, se percató de la afectación intelectual en el curso de la enfermedad. Guislain afirmó que "Malgré la tristesse... cet état (la mélancolie) reagit sur l'intelligence que est dans un état d'obnubelation" (Guislain, 1852)

Es el psiquiatra alemán Emil Kraepelin (1856-1926) quien en su obra *Kompendium der Psychiatrie* establece las bases de la nosología psiquiátrica moderna. Su sistema de clasificación de los trastornos mentales se basa en la agrupación de síntomas y en la observación a largo plazo del curso de la enfermedad. Kraepelin, en la sexta edición de su tratado, delimita nosológicamente dos grupos de psicosis: el trastorno maniaco depresivo y la demencia precoz, término este último que Bleuler sustituyó posteriormente por el de esquizofrenia (Berrios, 1988; Vallejo, 1998).

La psicosis maniaco depresiva recibe con este autor, ya de forma definitiva, una categoría nosológica diferenciada. Desde Hipócrates hasta Kraepelin se han ido separando del tronco de la melancolía hipocrática otro tipo de trastornos más heterogéneos, como la confusión mental, las neurosis obsesivas, el estupor catatónico, los delirios crónicos de persecución, etc., hasta llegar a dejar perfilada la psicosis maniaco depresiva, conocida en la actualidad como trastorno bipolar.

Ya en la segunda mitad del siglo XX, diversos autores proponen la existencia de dos entidades diferentes dentro del trastorno maniaco depresivo definido por Kraepelin. Por un lado, la depresión unipolar (trastorno depresivo mayor) en la que los pacientes no presentarían nunca episodios de manía, y por otro, el trastorno bipolar, en el que se alternarían episodios depresivos con episodios maníacos, o en

el que existirían sólo episodios de manía (Leonhard, 1957; Angst, 1966; Perris, 1966; Winokur y cols, 1969).

Esta aproximación nosológica a los trastornos afectivos graves se mantiene, en esencia, en los criterios diagnósticos clínicos de uso en psiquiatría, el DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 1994), y en su más reciente versión DSM-IV-TR (2000), en los que se recoge el diagnóstico de la Depresión Mayor.

2.1 Definición clínica del trastorno depresivo mayor

Habitualmente la depresión ha sido considerada como un síndrome, realizándose muchos esfuerzos para delimitar las características esenciales de esta enfermedad con el objeto de ser diagnosticada y tratada de una manera fiable.

Un diagnóstico conlleva ciertas implicaciones psicopatológicas, etiológicas y terapéuticas, por lo que cualquier esfuerzo en este sentido debe de ser válido con respecto a estas variables (validez externa o de criterio). Sin embargo, el diagnóstico de la depresión presenta problemas que, por una parte, se deben a la dificultad de delimitar los distintos síntomas y por otra, a la enorme variabilidad clínica de los cuadros depresivos. Asimismo, no debemos olvidar, que no existen marcadores biológicos, bioquímicos o de morfología cerebral que permitan un diagnóstico inequívoco de la depresión. En general, y ante la ausencia de validadores externos de los trastornos depresivos, el diagnóstico debe ser necesariamente psicopatológico y clínico (Peralta and Cuesta, 2002).

Los síntomas que caracterizan un cuadro depresivo mayor se encuentran recogidos en el Manual Diagnóstico y Estadístico para Enfermedad Mental, DSM-IV (A.P.A., 1994). Este manual es la base del diagnóstico psiquiátrico en el sistema de salud en la mayoría de los países occidentales. Estos criterios permiten el diagnóstico de cualquier tipo de trastorno mental, incluyendo, desde los trastornos de la niñez hasta las demencias.

La idea de crear un manual diagnóstico estándar surgió después de la Segunda Guerra Mundial con el principal objetivo de establecer un lenguaje diagnóstico común entre los diferentes países, psiquiatras y sistemas de salud. Los criterios operativos como el DSM-IV tienen ciertas ventajas entre las que destacan una mayor fiabilidad entre observadores, una mayor facilidad a la hora de transmitir

la información clínica entre profesionales, centros y países, lo que permite que la investigación se realice en grupos más homogéneos de pacientes y, por tanto, comparables entre sí. Sin embargo, también presenta inconvenientes, tales como la simplificación del cuadro clínico, la arbitrariedad de algunos de los criterios de inclusión y de exclusión, la duración mínima exigida de los síntomas o la falta de consideración en el diagnóstico del grado de discapacidad que produce en el paciente un cuadro determinado.

2.2 Diagnóstico basado en los criterios DSM-IV (APA, 1994)

Según el diagnóstico categorial basado en los criterios DSM-IV (APA, 1994), el trastorno depresivo mayor se caracteriza clínicamente por la pérdida de interés o placer en casi todas las actividades de la vida del individuo y se acompaña de cambios que afectan a distintas funciones biológicas del individuo.

Normalmente, el apetito y el peso disminuyen, a menudo de forma muy rápida; aparecen alteraciones del sueño que pueden manifestarse tanto como hipersomnia o como despertar precoz a primeras horas de la mañana. Se pueden observar, igualmente, cambios psicomotores que pueden manifestarse como agitación o como una inhibición generalizada del movimiento; asimismo, el cansancio y la fatiga son síntomas muy comunes en la depresión.

Por otro lado, el individuo deprimido presenta cambios que afectan al funcionamiento cognitivo provocando una disminución en la capacidad para pensar, concentrarse o tomar decisiones. Son, igualmente, muy comunes los sentimientos de infravaloración y culpa, así como los pensamientos recurrentes de muerte. Se ha de tener en cuenta que la ideación suicida y las tentativas de suicidio son muy frecuentes en personas afectadas por una depresión mayor, siendo más de un 15 %

de los pacientes los que acaban con su vida cometiendo suicidio (Guze and Robins, 1970; Goodwin FK, 1990)

Tabla 1. Tabla resumen de los síntomas relacionados con la depresión mayor.

Síntomas de la depresión	
<i>Emocionales</i>	Humor deprimido, tristeza Disminución del placer o interés en la mayoría de las actividades
<i>Somáticas</i>	Pérdida o ganancia de peso Insomnia o hypersomnia Agitación o retraso psicomotor Fatiga o pérdida de energía
<i>Cognitivas</i>	Sentimientos de infravaloración o culpa excesiva o inapropiada Disminución en la habilidad de pensar o concentrarse, indecisión Pensamiento recurrentes de muerte o suicidio

Con respecto a la depresión mayor y su diagnóstico según criterios DSM-IV, en el Cuadro 1 se detallan los criterios establecidos que exigen, por un lado, que el paciente presente o haya presentado, al menos, un episodio depresivo mayor (punto A) (ver Cuadro 2 para este diagnóstico). Por otro lado, el psiquiatra debe constatar que los síntomas que sufre el paciente no se explican por la existencia de otros trastornos mentales graves (punto B) y que, además, no se haya producido nunca en la historia clínica del paciente un episodio maníaco (punto C). En el caso de cumplir este último punto, el diagnóstico sería de trastorno bipolar.

Cuadro 1. Criterios DSM-IV para el diagnóstico de un Trastorno depresivo mayor

• **Criterios para diagnóstico del F32.x Trastorno depresivo mayor**

- A. Presencia de, al menos, un episodio depresivo mayor (ver cuadro 2)
- B. El episodio depresivo mayor no se explica mejor por la presencia de un trastorno esquizoafectivo y no está superpuesto a una esquizofrenia, un trastorno esquizofreniforme, un trastorno delirante o un trastorno psicótico no especificado.
- C. Nunca se ha producido un episodio maniaco, un episodio mixto o un episodio hipomaniaco. Nota: esta exclusión no es aplicable si todos los episodios similares a la manía, a los episodios mixtos o a la hipomanía son inducidos por sustancias o por tratamientos o si se deben a los efectos fisiológicos directos de una enfermedad médica.

Codificar el estado del episodio actual o más reciente

- .0 Leve**
- .1 Moderado**
- .2 Grave sin síntomas psicóticos**
- .3 Grave con síntomas psicóticos**
- .4 En remisión parcial/en remisión total**
- .9 No especificado**

Especificar (para el episodio actual o para el más reciente):

- Crónico**
- Con síntomas catatónicos**
- Con síntomas melancólicos**
- Con síntomas atípicos**
- De inicio en el posparto**

Como puede observarse en el Cuadro 1, los criterios diagnósticos contemplan la posibilidad de valorar clínicamente la gravedad del episodio actual (de leve a grave con síntomas psicóticos) y también permite especificar la existencia de otros síntomas de interés como los melancólicos (ver Cuadro 3 para este apartado). Adicionalmente, se considerará que un episodio depresivo cursa con sintomatología psicótica cuando existe presencia de ideas delirantes o alucinaciones (normalmente auditivas). En general los síntomas psicóticos congruentes con el estado de ánimo incluyen ideas delirantes de culpa (p. ej. Ser responsable de la enfermedad de un ser querido), ideas delirantes de ser merecedor de un castigo (p. ej. Ser castigado

por algún fallo personal o por una trasgresión moral), ideas delirantes somáticas (p. ej., tener cáncer) etc.

El episodio depresivo cursa con sintomatología catatónica cuando existe una marcada alteración psicomotora que puede consistir en inmovilidad motora, actividad motora excesiva, negativismo extremo, mutismo, peculiaridades del movimiento voluntario, ecolalia o ecopraxia.

El episodio depresivo también puede cursar con sintomatología atípica. Las características principales son la reactividad del estado de ánimo (capacidad para alegrarse en situaciones positivas) (Criterio A) y la presencia de, al menos, dos de los síntomas siguientes (Criterio B): aumento del apetito y del peso, hipersomnias, abatimiento y un patrón muy prolongado de extrema sensibilidad a la percepción de rechazo interpersonal.

Finalmente, el episodio depresivo puede presentarse durante las primeras cuatro semanas posteriores al alumbramiento (especificación de inicio postparto). Es frecuente que las mujeres con episodios depresivos mayores posparto presenten una gran ansiedad, crisis de angustia, llanto espontáneo mucho tiempo después de dar a luz, mostrando, asimismo desinterés por el nuevo hijo e insomnio (que es más probable que se manifieste como dificultad para conciliar el sueño que como despertar precoz).

Cuadro 2. Criterios necesarios que el paciente debe cumplir para ser diagnosticado un episodio depresivo mayor.

• **Criterios para el episodio depresivo mayor**

A. Presencia de cinco (o más) de los siguientes síntomas durante un período de 2 semanas, que representan un cambio respecto a la actividad previa; uno de los síntomas deber ser (1) estado de ánimo deprimido o (2) pérdida de interés o de la capacidad para el placer.

Nota: No incluir los síntomas que son claramente debidos a enfermedad médica o las ideas delirantes o alucinaciones no congruentes con el estado de ánimo.

- (1) estado de ánimo deprimido la mayor parte del día, casi cada día según lo indica el propio sujeto (p.ej., se siente triste o vacío) o la observación realizada por otros (p.ej., llanto). **Nota:** En los niños y adolescentes el estado de ánimo puede ser irritable
- (2) disminución del interés o de la capacidad para el placer en todas o en casi todas las actividades, la mayor parte del día, casi cada día (según refiere el propio sujeto u observan los demás)
- (3) pérdida importante de peso sin hacer régimen o aumento de peso (p.ej., un cambio de más del 5% del peso corporal en 1 mes), o pérdida o aumento del apetito casi cada día. **Nota:** En niños hay que valorar el fracaso en lograr los aumentos de peso esperables
- (4) insomnio o hipersomnia cada día
- (5) agitación o enlentecimiento psicomotores casi cada día (observable por los demás, no meras sensaciones de inquietud o de estar enlentecido)
- (6) fatiga o pérdida de energía casi cada día
- (7) sentimientos de inutilidad o de culpa excesivos o inapropiados (que pueden ser delirantes) casi cada día (no los simples autorreproches o culpabilidad por el hecho de estar enfermo)
- (8) disminución de la capacidad para pensar o concentrarse, o indecisión, casi cada día (ya sea una atribución subjetiva o una observación ajena)
- (9) pensamientos recurrentes de muerte (no sólo temor a la muerte), ideación suicida recurrente sin un plan específico o una tentativa de suicidio o un plan específico para suicidarse

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

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

D. Los síntomas no son debidos a los efectos fisiológicos directos de una sustancia (p.ej., una droga, un medicamento) o una enfermedad médica (p.ej. hipotiroidismo)

E. Los síntomas no se explican mejor por la presencia de un duelo (p.ej., después de la pérdida de un ser querido), los síntomas persisten durante más de 2 meses o se caracterizan por una acusada incapacidad funcional, preocupaciones mórbidas de inutilidad, ideación suicida, síntomas psicóticos o enlentecimiento psicomotor.

Dentro del trastorno depresivo mayor, tal y como se define en los criterios diagnósticos actuales DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, APA, 1994) aparece el diagnóstico de trastorno depresivo mayor con síntomas melancólicos que, según algunos autores (Kendler, 1997) definiría un subgrupo etiológico de enfermedad más endógeno y grave y, en hipótesis, con mayor carga genética. Dado su interés, se especifican en el Cuadro 3 los criterios DSM-IV para los síntomas de melancolía.

Cuadro 3. Criterios que el paciente ha de cumplir, para que el psiquiatra considere que el episodio depresivo mayor cursa con síntomas de melancolía, según el DSM-IV.

• **Criterios para la especificación con síntomas melancólicos**

Especificar si:

Con síntomas melancólicos (puede aplicarse al episodio depresivo mayor actual o más reciente de un trastorno depresivo mayor y a un episodio depresivo mayor de un trastorno bipolar I o bipolar II sólo en el caso de que éste sea el episodio afectivo más reciente)

A. Presencia de uno de los siguientes síntomas durante el período más grave del episodio actual:

- (1) pérdida de placer en todas o casi todas las actividades, falta de reactividad a los estímulos habitualmente placenteros (no se siente mejor, ni siquiera temporalmente, cuando sucede algo bueno)

B. Tres (o más) de los siguientes:

- (1) una cualidad distintiva del estado de ánimo depresivo (p.ej., el estado de ánimo deprimido se experimenta de forma distinta del tipo de sentimiento experimentado tras la muerte de un ser querido)
- (2) la depresión es habitualmente peor por la mañana
- (3) despertar precoz (al menos 2 horas antes de la hora habitual de despertarse)
- (4) enlentecimiento o agitación psicómotoras
- (5) anorexia significativa o pérdida de peso
- (6) culpabilidad excesiva o inapropiada

2.2.1. Trastorno depresivo no especificado

La categoría de trastorno depresivo no especificado incluye aquellos estados con síntomas depresivos que no cumplen los criterios para trastorno depresivo mayor. Algunos de estos estados serían el trastorno distímico, el trastorno adaptativo con estado de ánimo deprimido o el trastorno adaptativo con estado de ánimo mixto ansioso y depresivo. Algunas veces los síntomas depresivos se presentan como parte de un trastorno de ansiedad no especificado. En la tabla 2, se resumen algunos trastornos del ánimo que, aún implicando sintomatología depresiva, no configuran un cuadro depresivo mayor.

Tabla 2. Resumen de los trastornos que presentan sintomatología depresiva pero que no son definidos como trastorno depresivo mayor.

Tipo de trastorno	Definición
<i>T. Disfórico premenstrual</i>	Sintomatología presente regularmente en la última fase luteínica, con remisión a los pocos días del inicio de las menstruaciones, y suficientemente grave como para interferir notablemente en las actividades habituales. Los síntomas han de estar ausentes al menos una semana después de las menstruaciones.
<i>T. Depresivo menor</i>	Episodios de al menos 2 semanas de síntomas depresivos pero con menos de los cinco ítems exigidos para el trastorno depresivo mayor.
<i>T. Depresivo breve recidivante</i>	Episodios depresivos con una duración de 2 días a 2 semanas, que se presentan al menos una vez al mes durante 12 meses.
<i>T. Depresivo postpsicótico (en esquizofrenia)</i>	Episodio depresivo mayor que se presenta durante la fase residual de la esquizofrenia

2.2.2. Diagnóstico diferencial

Ya hemos visto que existen algunos criterios psicopatológicos que nos ayudan a distinguir la depresión como trastorno o enfermedad respecto a formas de reacción emocional normal o disfuncional con elementos depresivos; sin embargo, esta distinción no siempre es sencilla. La delimitación de los trastornos depresivos con otras enfermedades mentales puede ser aún más compleja, ya que a menudo se plantean problemas de diagnóstico diferencial con trastornos limítrofes, como podemos observar en la Figura 1.

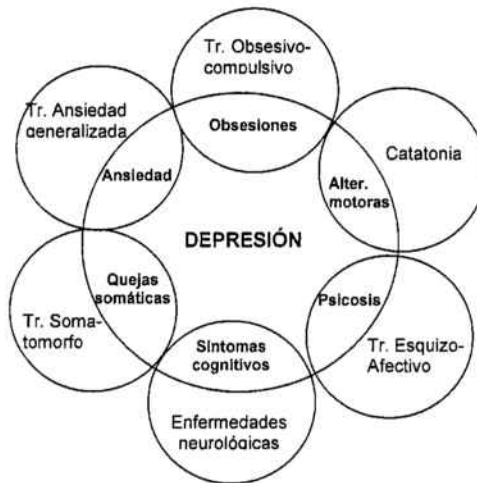


Figura 1. Las fronteras de la depresión con otros trastornos mentales (adaptado de Peralta y Cuesta., 2002)

Por ejemplo, un episodio depresivo mayor debe ser diferenciado de un trastorno del estado de ánimo debido a enfermedad médica. En estas ocasiones la alteración del estado de ánimo se considera un efecto fisiológico directo de una enfermedad médica específica (p.ej., esclerosis múltiple, accidente vascular cerebral, hipotiroidismo).

Tampoco se clasifica como trastorno depresivo mayor aquel trastorno del estado de ánimo inducido por sustancias (p.ej., una droga, un medicamento o la exposición a un tóxico) puesto que se considera que es la sustancia la que está directamente relacionada con el cambio de humor.

Asimismo, y como se ha señalado anteriormente, el trastorno depresivo mayor debe ser diferenciado de otros diagnósticos psiquiátricos como el trastorno distímico, que se distingue del anterior en base a la gravedad, la cronicidad y la persistencia. Esta diferenciación es especialmente difícil para estos dos trastornos puesto que ambos comparten síntomas parecidos. El trastorno distímico se caracteriza por síntomas depresivos menos graves y crónicos, que se mantienen durante muchos años.

Por otro lado, una historia de un episodio maníaco, mixto o hipomaníaco excluye el diagnóstico de trastorno depresivo mayor. La presencia de episodios hipomaníacos (sin historia de ningún episodio maníaco) indica el diagnóstico de trastorno bipolar de tipo II. La presencia de episodios maníacos o mixtos (con o sin episodios hipomaníacos) indica el diagnóstico de trastorno bipolar de tipo I.

En este sentido, el trastorno esquizoafectivo diferirá del trastorno depresivo mayor con síntomas psicóticos por la exigencia de que en el trastorno esquizoafectivo tienen que producirse, durante al menos 2 semanas, ideas delirantes o alucinaciones que aparezcan en ausencia de síntomas afectivos acusados. Asimismo, pueden existir síntomas depresivos en la esquizofrenia, en el trastorno delirante y en el trastorno psicótico no especificado. En la mayoría de estos casos los síntomas depresivos pueden considerarse características asociadas a estos trastornos y, por tanto, no es correcto realizar un diagnóstico independiente. Los antecedentes personales y familiares son útiles a la hora de hacer distinciones.

Por último, hay que señalar que en los ancianos suele ser difícil determinar si algunos síntomas cognitivos (p.ej., desorientación, apatía, dificultades de concentración, pérdida de memoria) son atribuibles a una demencia que comienza a manifestarse o a un episodio depresivo mayor. El diagnóstico diferencial puede basarse en una evaluación médica general completa y en la consideración del inicio de la alteración, la secuencia temporal de los síntomas depresivos y cognitivos, el curso de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.

3. EPIDEMIOLOGÍA DE LA DEPRESIÓN MAYOR

El trastorno depresivo mayor es una de las cinco principales causas de incapacidad y de enfermedad en el mundo (Murray and Lopez, 1996). Es una enfermedad mental muy frecuente en las sociedades occidentales en las que ocasiona un importante número de bajas laborales y un elevado gasto farmacéutico.

Según la OMS (Organización Mundial de la Salud), actualmente unos 340 millones de personas sufren depresión. Se cree que hacia el año 2020 ocupará el segundo puesto en la lista global de enfermedades y será el trastorno que causará más bajas laborales (Murray and Lopez, 1996; Pincus y cols, 1998). Sin embargo, aún siendo un trastorno tan importante, únicamente uno de cada tres enfermos que sufren depresión parece buscar y recibir el tratamiento adecuado.

Los costes directos e indirectos que genera la depresión mayor en U.S.A. se calculan alrededor de 70 mil millones de dólares, entre gastos médicos, pérdida de productividad y otros costes. Concretamente, un estudio calculó que sólo la pérdida de días de trabajo costaba alrededor de 12 mil millones de dólares, mientras que la pérdida de productividad debido al estado de ánimo deprimido costaba unos 11 mil millones (\$) (National Institute of Mental Health, 1999; The Wall Street Journal, 2001)

La probabilidad de que un individuo sufra un episodio de trastorno depresivo mayor a lo largo de su vida se sitúa alrededor del 5%; sin embargo, hay autores que describen riesgos más elevados, en torno al 15%, cuando se consideran trastornos depresivos menos graves. Según diferentes estudios, este riesgo podría llegar hasta el 26% en el caso de las mujeres (Cassem, 1995; Kashani JH, 1995; Bierut y cols, 1999).

La incidencia estimada en población general para trastornos depresivos de diferente gravedad se sitúa alrededor de 2 nuevos casos por cada 100 habitantes y

año (Eaton and Burdz, 1984). La edad media de inicio de un trastorno depresivo mayor se sitúa alrededor de los 30 años, y alrededor de los 40 si cursa con síntomas de melancolía (Smith, 1992).

Asimismo, los estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto el hecho de que las mujeres parecen presentar una mayor prevalencia, incidencia y riesgo mórbido para el trastorno depresivo mayor. De hecho los datos sugieren que la depresión mayor sería dos veces más frecuente entre mujeres que entre hombres (Weissman and Olfson, 1995). Concretamente, la prevalencia parece variar en un rango del 2.6% al 5.5% en hombres y del 6.0% al 11.8% en mujeres (Fava and Davidson, 1996). Estos datos han sido ampliamente discutidos por diferentes autores que apoyarían la hipótesis de que las diferencias con respecto al sexo, quizás, vendrían dadas por la manera en que la depresión se desarrolla. Las mujeres sufrirían más frecuentemente síntomas ansiosos y de somatización, y consultarían más por estos síntomas, identificándose más fácilmente como casos prevalentes en el sistema de salud, mientras que los hombres exteriorizarían los síntomas de manera diferente y con otro tipo de conductas como el alcoholismo, personalidad antisocial o abuso de drogas (Kuehner, 2003). En este sentido, el concepto de "espectro de trastornos depresivos" ha sido sugerido por algunos autores como una manera de identificar una interacción específica gen-ambiente que provocaría depresión en mujeres y alcoholismo en hombres (Angst and Dobler-Mikola, 1984; Piccineli and Wilkinson, 2000). En cambio, para otros autores, la prevalencia o riesgo para sufrir una depresión entre hombres y mujeres sería equivalente en aquellos casos en que la depresión presenta un mayor grado de severidad o endogeneidad (Silverstein, 1999).

Con respecto a la importancia de los factores genéticos como factores de riesgo para sufrir depresión mayor, una de las aportaciones más interesantes de los trabajos de Kendler y colaboradores hace referencia a la investigación de la heterogeneidad etiopatogénica de los trastornos afectivos basándose en muestras de gemelos obtenidas de la población general (Kendler and Prescott, 1999; Sullivan y cols, 2000). Algunos de los resultados encontrados por estos autores sugieren que la importancia de los factores genéticos de riesgo para el trastorno depresivo mayor es la misma entre varones que entre mujeres; sin embargo, matizan, y sugieren que algunos factores de riesgo son compartidos por ambos sexos pero otros serían característicos de cada uno de ellos. Algunos de estos genes de vulnerabilidad, sobre todo en el caso del sexo femenino y en base a diferentes tipos de estudios realizados, podrían estar íntimamente relacionados con sutiles diferencias morfológicas y funcionales cerebrales en el sistema serotoninérgico, especialmente en el número de receptores (Biver y cols, 1996; Gutierrez y cols, 1996). Asimismo, algunos autores han propuesto que en la mujer se daría una menor capacidad de síntesis de serotonina durante situaciones de estrés, siendo menos eficaces a la hora de mantener niveles cerebrales adecuados y adaptativos del neurotransmisor (Nishizawa y cols, 1997). En estas situaciones, los niveles de serotonina descenderían más en mujeres que en hombres, incrementando, posiblemente, la vulnerabilidad para la depresión en mujeres.

Tabla 3. Factores de riesgo que podrían explicar las diferencias existentes en depresión mayor entre hombres y mujeres

Ambiente familiar en la niñez y malas experiencias	Las mujeres presentan un mayor riesgo de abuso sexual y parecen ser más sensibles a experiencias traumáticas en la niñez.
Depresión previa y trastornos de ansiedad	Las mujeres presentan un riesgo incrementado para trastornos depresivos y ansiosos en edades tempranas
Rol social y normas culturales	Las limitaciones sociales, los roles impuestos, y en muchos casos la falta del poder de elección incrementan el riesgo de depresión en la mujer.
Acontecimientos vitales adversos	Las mujeres no experimentan un mayor número de acontecimientos vitales, pero la experiencia asociada a ellos puede ser cualitativamente diferente, probablemente debido a circunstancias sociales distintivas.
Soporte social	No parece tener una contribución directa en el aumento de riesgo para la depresión mayor
Factores genéticos	No parece tener una contribución diferencial en el aumento de riesgo para la depresión mayor en las mujeres
Hormonas gonadales	Efecto parcial, aunque menor que el que producen las variables ambientales
Ejes adrenal y tiroide	Resultados contrastados para el eje adrenal. Rol limitado del eje tiroideo
Sistemas de neurotransmisión	Funcionamiento diferencial de algunos sistemas como el serotoninérgico.

Tabla adaptada de Piccinelli and Wilkinson, 2000

No parecen existir diferencias importantes en la prevalencia de la depresión entre distintas culturas o niveles socioeconómicos, aunque sí parece influir el estado civil del individuo, aumentando el riesgo para la enfermedad si el sujeto es varón soltero o en individuos de ambos sexos durante el proceso de divorcio o separación. Asimismo, la existencia de antecedentes familiares de depresión incrementa el

riesgo para la enfermedad así como para la severidad de los síntomas (Smith, 1992; Vallejo, 2000).

Tabla 4. Resumen de la epidemiología y los factores de riesgo en depresión mayor.

Prevalencia	2.6-5.5% hombres 6.0-11.8% mujeres
Sexo	2:1 (mujer:varón)
Edad	Jóvenes (18-44años)
Raza	No relación
Clase social	Baja
Estado civil	Separados/divorciados Conflictos de pareja
Soporte social	Bajo
Historia familiar	Positiva: aumenta el riesgo
Antecedentes tres episodios	Aumenta el riesgo de recaídas
Duración prolongada del episodio	Aumenta el riesgo de cronicidad

Adaptado de Vallejo, 2000

El suicidio es un problema muy importante dentro del sistema de salud público que aparece como una complicación grave y frecuente en los trastornos afectivos. El riesgo de cometer suicidio en individuos que padecen un trastorno afectivo se sitúa alrededor del 10-15% (Guze and Robins, 1970; Barklage, 1991; Mueller and Leon, 1996); asimismo, el riesgo de tentativas de suicidio se ha visto incrementado algo más de cuarenta veces en pacientes deprimidos cuando se han comparado con pacientes que presentaban otros tipos de diagnósticos (*Epidemiologic Catchment Area survey*, (Petronis y cols, 1990)). De igual forma, es bien conocido que el número de tentativas suicidas es mayor en mujeres que en hombres pero que la probabilidad de éxito en estas tentativas es superior en los hombres.

Aunque la mayoría de clínicos están de acuerdo en que existen distintos factores que incrementa el riesgo de suicidio, los esfuerzos para delimitar de algún modo estos factores han sido bastante decepcionantes (Oxley and Van Meter, 1996). Si bien es cierto que se han descrito diferentes asociaciones positivas entre riesgo de suicidio y la edad, pérdidas recientes, sexo masculino, historia de tentativas de suicidio o antecedentes familiares de suicidio, estas asociaciones no son necesariamente útiles a la hora de valorar el riesgo de suicidio en un paciente con trastorno depresivo mayor. En cualquier caso, y como se recoge en la tabla 5, existe cierto consenso sobre los factores que han de ser considerados para determinar si existe un riesgo incrementado de suicidio en un paciente (Pokorny, 1993; Young y cols, 1994; Oxley and Van Meter, 1996).

Tabla 5. Factores que podrían sugerir un riesgo incrementado de suicidio en un paciente con un episodio mayor.

Factores demográficos

Sexo masculino
Pérdidas recientes
No matrimonio
Vejez

Síntomas

Depresión severa
Ansiedad
Desesperación
Psicosis, especialmente con alucinaciones

Historia

De tentativas suicidas (especialmente si las tentativas han sido graves o múltiples)
Historia familiar de suicidio
Abuso de sustancia

Pensamiento suicida

Presencia de un plan específico
Medios disponibles para llevar a cabo el plan
Ausencia de factores que puedan evitar que el paciente ponga en práctica su plan
Ensayos previos del plan suicida

4. CURSO y PRONÓSTICO DEL EPISODIO DEPRESIVO

4.1 Curso

Los síntomas de un episodio depresivo mayor suelen desarrollarse a lo largo de días o semanas. Antes de que se manifieste un episodio depresivo mayor completo puede haber un periodo prodrómico con síntomas ansiosos y síntomas depresivos leves que puede durar semanas o meses (Keller y cols, 1996). El primer episodio depresivo suele aparecer entre los 25 y los 35 años en la mayoría de los pacientes (Weissman y cols, 1996). El inicio tardío se suele asociar a la ausencia de historia familiar previa de trastornos del estado de ánimo.

La duración de un episodio depresivo mayor también es variable. Lo habitual es que un episodio no tratado dure 6 meses o más, independientemente de la edad de inicio. En la mayoría de los casos hay una remisión más o menos completa de los síntomas y la actividad retorna al nivel premórbido después del episodio. En una proporción considerable de casos (quizás el 20 o el 30%), algunos síntomas depresivos son insuficientes para cumplir totalmente los criterios diagnósticos DSM-IV para un episodio depresivo mayor, pudiéndose observar síntomas durante meses o incluso años que se asocian a incapacidad o malestar permanente en el individuo. Algunos sujetos (5-10%), sin embargo, siguen cumpliendo totalmente los criterios para un episodio depresivo mayor durante 2 o más años, en cuyo caso se considera que la enfermedad se ha cronificado (Keller y cols, 1996).

Estudios prospectivos de larga duración (2-20 años) ponen de manifiesto que después de un episodio de depresión mayor, en aproximadamente un 17% de los pacientes existirá una cronificación de la enfermedad (Winokur and Morrison, 1973; Keller y cols, 1984; Fava and Davidson, 1996; Mueller and Leon, 1996; Piccinelli and Wilkinson, 2000). Un episodio puede cronificarse a partir de una recaída posterior a

una mejora inicial (Fava and Davidson, 1996). En general, los datos indican que cuanto más tiempo perdura el episodio depresivo, más posibilidades tiene de persistir en el tiempo y cronificarse (Piccineli and Wilkinson, 2000), lo cual no significa que un paciente con este tipo de depresión no pueda recuperarse de su enfermedad (Mueller and Leon, 1996).

Después de haber sufrido un episodio depresivo por primera vez, las posibilidades de sufrir un segundo episodio aumentan un 50%, pero después de dos episodios, las posibilidades de un tercero aumentan hasta un 70% y así sucesivamente, dependiendo del número de episodios depresivos previos (Thase, 1992; Coryell y cols, 1994; Keller, 1994; Keller y cols, 1996).

Diversos estudios han puesto de manifiesto que existen un gran número de factores que incrementan el riesgo de recaída y recurrencia de un episodio depresivo (Belsher and Costello, 1988; Scott, 1988; Boyce y cols, 1991; Coryell y cols, 1991; Keitner y cols, 1991; Conte and Karasu, 1992; Dubovsky and Thomas, 1992; Thase, 1992; Keller, 1994; Mueller and Leon, 1996; Catalan y cols, 1997; Pintor y cols, 2003). Uno de los factores más importantes es el tratamiento inadecuado y la remisión incompleta del episodio. Debido a que la existencia de síntomas depresivos residuales incrementa cuatro veces el riesgo de recaída, cualquier episodio depresivo debería ser tratado de la manera más prolongada y completa posible. La interrupción de un tratamiento farmacológico efectivo, especialmente si la retirada se produce de una manera rápida, suele inducir recaídas. Una alta emocionalidad en la familia, problemas maritales y psicosis también incrementa el riesgo de recaída en el episodio depresivo

4.2 Pronóstico del Episodio Depresivo Mayor

El trastorno depresivo mayor no es un trastorno benigno, tiende a cronificarse y los pacientes suelen recaer. Los individuos que han sido hospitalizados por un primer episodio depresivo tienen un 50% de posibilidades de recuperarse durante el primer año. El porcentaje de individuos que se recuperan tras la hospitalización disminuye con el paso del tiempo y, a los 5 años, un 10-15% de los sujetos no se ha recuperado. Muchos de estos pacientes que no se recuperan totalmente mantienen un trastorno distímico. Aproximadamente un 25% de los pacientes experimentan un nuevo episodio depresivo en los primeros 6 meses siguientes al alta hospitalaria, de un 30% a un 50% en los primeros dos años, y entre un 50% y un 75% en cinco años (Kaplan y cols, 1996). La incidencia de recaídas es menor en los pacientes que siguen un tratamiento farmacológico profiláctico.

En general, a medida que el paciente sufre más episodios depresivos, el tiempo entre éstos se reduce y la gravedad incrementa (Kaplan y cols, 1996).

Por otro lado, los episodios leves, la ausencia de síntomas psicóticos y la hospitalización corta se consideran indicadores de buen pronóstico. Asimismo, entre los indicadores sociales de un buen curso destacan una historia de sólidas relaciones interpersonales durante la adolescencia y un funcionamiento familiar estable. Otros signos de buen pronóstico son la ausencia de comorbilidad psiquiátrica, no más de una hospitalización previa por depresión y una edad de inicio avanzada. En cambio, la coexistencia de un trastorno distímico, el consumo de alcohol y otras sustancias y una historia previa de depresión, son indicadores de mal pronóstico. Asimismo, es más probable que los hombres sigan un curso más crónico que las mujeres (Kaplan y cols, 1996).

5. EL TRATAMIENTO DE LA DEPRESIÓN

La depresión mayor se ha convertido en los últimos años en un importante problema de salud en las poblaciones desarrolladas. Aunque el tratamiento farmacológico de la depresión puede considerarse como uno de los grandes éxitos de la psiquiatría moderna, no podemos olvidar que casi dos tercios de la población que sufre depresión no busca y/o no recibe un tratamiento adecuado para su enfermedad (Murray and Lopez, 1996).

Contrariamente a lo que muchas personas que sufren una enfermedad mental creen (Sussman y cols, 1987), actualmente existen una gran variedad de tratamientos dirigidos a mejorar la sintomatología de este tipo de trastornos.

En el caso de la depresión existe un amplio rango de tratamientos eficaces que incluyen la psicoterapia, la terapia farmacológica y la terapia electroconvulsiva (TEC) utilizada, esta última, en el tratamiento de depresiones especialmente graves. Algunos autores han descrito que la combinación de diferentes tipos de terapia (terapia multimodal) puede, en muchos casos, ser más efectiva (Doris y cols, 1999).

Actualmente, el abordaje más común desde el sistema sanitario de un episodio depresivo es el tratamiento farmacológico con antidepresivos (Spigset and Martensson, 1999). Sin embargo, de aquellos pacientes que son tratados con un antidepresivo, los ensayos clínicos indican que aproximadamente un 60% responderá al tratamiento inicial, mientras que del 40% restante, algunos responderán de manera parcial y otros no responderán en absoluto (Guscott and Grof, 1991; Spigset and Martensson, 1999; Quitkin y cols, 2000).

Habitualmente, la respuesta clínica al tratamiento farmacológico se mide mediante escalas que recogen la intensidad de los síntomas depresivos al inicio y durante el periodo en el que el paciente ha recibido el tratamiento. La escala más

comúnmente utilizada se denomina Hamilton Depressive Rating Scale (HDRS) (Hamilton, 1970). Usualmente se considera que un paciente ha "respondido" al tratamiento farmacológico cuando el HDRS inicial ha disminuido, al menos, un 50% a la cuarta u octava semana del tratamiento, dependiendo de los estudios (Frank y cols, 1991). Sin embargo esta definición sigue siendo, en la actualidad, algo ambigua, puesto que en la mayoría de las ocasiones no se distingue si la mejora de los síntomas en las primeras semanas de tratamiento es debida a una respuesta a placebo o si sigue un verdadero patrón de respuesta a fármaco. Por tanto, sería conveniente considerar como respuesta clínica aquella que se mantiene en el tiempo y, por tanto, llevar a cabo un seguimiento del episodio a largo plazo siempre que sea posible.

Según los resultados obtenidos en ensayos clínicos, alrededor de un 30% de los pacientes tratados con antidepresivos experimentarían lo que habitualmente se denomina un efecto placebo, es decir, una mejora sustancial de la sintomatología depresiva que no estaría relacionada, de manera directa, con un efecto farmacológico (Enserick, 1999). En muchas ocasiones, la mejora de los síntomas viene dada, simplemente, por la alianza que se establece entre el médico y el paciente (Weiss y cols, 1997). Algunos estudios han puesto de manifiesto, que el efecto placebo disminuiría de manera proporcional a la severidad de los síntomas depresivos, y que, por tanto, en manifestaciones menos graves de la enfermedad la respuesta a placebo podría ser equiparable a la producida por los fármacos antidepresivos (Dunlop y cols, 1990; Lima and Moncrieff, 2000).

Otro de los principales problemas asociados al tratamiento con antidepresivos es la existencia de un largo periodo de latencia de respuesta, definido como el tiempo necesario para que el fármaco produzca su efecto antidepresivo (*therapeutic*

lag). La respuesta terapéutica al antidepresivo no empieza a manifestarse hasta, al menos, unas cuatro semanas después de iniciado el tratamiento (Montgomery, 1997); de hecho se considera que la mejora clínica máxima inducida por el fármaco es lenta necesitándose, en la mayoría de los casos, un periodo que varía entre las seis y las doce semanas una vez iniciado el tratamiento (Quitkin y cols, 1984; Gelenberg and Chesen, 2000; Frazer and Benmansour, 2002).

Por eso, hoy en día, dos de los retos más importantes para la psicofarmacología son, por un lado, el aumento de la velocidad de acción y, por el otro, el aumento de la eficacia clínica de los tratamientos antidepresivos con el objetivo de reducir, de manera significativa, el sufrimiento de los pacientes y el riesgo asociado de suicidio. Tampoco hay que olvidar que este periodo de latencia puede afectar a la cumplimentación del tratamiento, puesto que durante las primeras semanas de tratamiento es cuando se produce con más intensidad la presencia de efectos secundarios y el abandono del tratamiento por parte de un número importante de pacientes (Thompson, 2002).

En general, la selección del tratamiento por parte del psiquiatra dependerá del resultado de la evaluación clínica. Habitualmente, se considera suficiente una terapia farmacológica adecuada, sin embargo, y dependiendo del caso, el tratamiento puede ser mucho más efectivo si se combina con psicoterapia. Cuando ambos tratamientos son inefectivos debido, en muchas ocasiones, a la gravedad del trastorno, existiría la posibilidad de aplicar terapia electroconvulsiva (TEC).

5.1 Terapia Farmacológica

Como veremos más tarde, existen un buen número de evidencias que indican que la norepinefrina (NE) y/o la serotonina (5-HT) están involucradas en la patofisiología de la depresión (Axelrod y cols, 1959; Bunney and Davis, 1965; Schildkraut, 1965; Coppen, 1967).

La reducción en la liberación de NE, probablemente debida a un descenso de la síntesis de neurotransmisores o un aumento en la actividad (inhibitoria) del autoreceptor α_2 , fue una de las primeras hipótesis en las que se postuló el rol de la NE en la depresión mayor (Axelrod y cols, 1959). Algunas teorías alternativas se han centrado no tanto en la disminución de la liberación de NE, sino en la desregulación de todo el sistema noradrenérgico.

Por otro lado, la hipótesis que involucra al sistema serotoninérgico en el origen de la depresión, fue desarrollada algo más tarde, y a diferencia de la hipótesis de la NE que se originó en U.S.A, ésta fue propuesta por investigadores de Suecia y UK (Coppen, 1967; Lapin and Oxenkrug, 1969; Murphy y cols, 1978). Cambios en la sensibilidad de los receptores pre- y post-sinápticos, alteraciones en la recaptación de serotonina o cambios en los mecanismos de unión al transportador, fueron algunos de los mecanismos propuestos para apoyar una funcionalidad reducida del sistema serotoninérgico en la depresión.

En base a estas dos hipótesis principales se generaron, en la segunda mitad del siglo XX, diferentes fármacos antidepresivos que, mediante distintos mecanismos de acción, eran capaces de revertir el estado depresivo produciendo, finalmente y fundamentalmente, una mayor disponibilidad de serotonina en el cerebro.

En la Tabla 6 se resumen los principales tipos de antidepresivos utilizados en la práctica clínica, clasificados por grupos según sus mecanismos de acción, y acompañados de las dosis terapéuticas recomendadas, según la Asociación Americana de Psiquiatría (*Practic guideline for the treatment of major depressive disorder*, 1999).

De todos ellos, los ISRS son, en la actualidad, los más utilizados en la clínica diaria (Stahl, 1998). En 1997, sólo esta categoría copaba el 75% del mercado a nivel mundial de antidepresivos (Neal and Cheetman, 1999).

A continuación se describirá de manera detallada los mecanismos de acción y los aspectos farmacológicos de más interés de los tres principales grupos de fármacos antidepresivos: los tricíclicos (ATCs), los Inhibidores de la monaminoxidasa A (IMAOs) y los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRS). Se hace hincapié en este último grupo, ya que una parte importante de la presente Tesis ha pretendido establecer la relación existente entre variantes genéticas de genes serotoninérgicos y la respuesta clínica al tratamiento con estos antidepresivos ISRS.

Tabla 6. Medicaciones antidepresivas usadas más frecuentemente y dosis habituales diarias recomendadas.

Nombre genérico	Dosis inicial (mg/día)	Dosis usual (mg/día)
1. Tricíclicos y tetracíclicos		
<i>Tricíclicos de aminas terciarias</i>		
Amitriptilina	25-50	100-300
Clomipramina	25	100-300
Doxepina	25-50	100-300
Imipramina	25-50	100-300
Timipramina	25-50	100-300
<i>Tricíclicos de aminas secundarias</i>		
Desipramina	25-50	100-300
Nortriptilina	25	50-200
Protriptilina	10	15-60
<i>Tetracíclicos</i>		
Amoxapina	50	100-400
Maprotilina	50	100-225
2. Inhibidores de la monoaminooxidasa		
<i>Irreversibles, no selectivos</i>		
Fenelcina	15	15-90
Tranilcipromina	10	30-60
<i>Inhibidores reversibles de la MAO-A</i>		
Moclobemida	150	300-600
3. Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina		
Citalopram	20	20-60
Fluoxetina	20	20-60
Fluvoxamina	20	50-300
Paroxetina	20	20-60
Sertralina	50	50-200
4. Inhibidores de la recaptación de dopamina-norepinefrina		
Bupropión	150	300
Bupropión, liberación sostenida	150	300
5. Inhibidores de la recaptación de norepinefrina-serotonina		
Venlafaxina	37.5	75-225
Venlafaxina, liberación extendida	37.5	75-225
6. Moduladores de la serotonina		
Nefadona	50	150-300
Trazodona	50	75-300
7. Modulador de la norepinefrina-serotonina		
Mirtazapina	15	15-45
8. Inhibidores selectivos de la recaptación de noradrenalina		
Reboxetina	-	-

Asociación Americana de Psiquiatría (1999)

5.1.1. Antidepresivos tricíclicos

Los antidepresivos tricíclicos (ATCs), junto con los inhibidores de la monoaminooxidasa (IMAOs), dominaron el tratamiento de la depresión como fármacos de primera elección durante casi 30 años, desde finales de los años 50' hasta finales de los años 80' cuando los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de la Serotonina (ISRS) aparecieron.

Los ATCs deben su nombre a la estructura molecular que presentan, formada por tres anillos de seis carbonos cada uno.

El primero de ellos, la imipramina, surgió en 1958 como consecuencia de la búsqueda de fármacos más eficaces en el tratamiento de la esquizofrenia. El prototipo resultó ineficaz en el tratamiento de los síntomas positivos de la esquizofrenia, sin embargo resultaba efectivo disminuyendo la sintomatología depresiva de estos enfermos.

El mecanismo de acción de los TCAs es poco específico, puesto que no presenta dianas terapéuticas únicas. Los TCAs podrían considerarse como cinco fármacos en uno, debido a su mecanismo de acción: (1) son inhibidores de la recaptación de serotonina (IRS), (2) inhibidores de la recaptación de norepinefrina (IRN), (3) fármacos anticolinérgicos-antimuscarínicos (M1), (4) antagonistas α 1 adrenérgico y (5) antihistamínicos (H1).

Sin embargo, y aún teniendo en cuenta, su alta eficacia antidepresiva, la mayor desventaja de estos fármacos son los efectos secundarios que causan en el paciente (ver Tabla 7). Los TCAs presentan alta afinidad por el receptor de histamina H1 y los α 1-adrenoceptores, así como por los cinco tipos de receptores muscarínicos (M-), lo que provoca sedación (antagonismo H1), efectos anticolinérgicos como sequedad de boca y visión borrosa (antagonismo M) o hipotensión ortostática y

vértigo (antagonismo α_1). Otros efectos secundarios implican la pérdida de la libido, estimulación del apetito (ganancia de peso). Por estas razones, los TCAs son considerados, actualmente, como fármacos de segunda elección y habitualmente se utilizan en el tratamiento de depresiones más graves.

Tabla 7. Tipos de antidepresivos tricíclicos, usos recomendados y no recomendados en la clínica, y efectos secundarios provocados por estos fármacos.

ATCs Nombre genérico (comercial*)	Uso habitual	Uso-no recomendado en caso de:	Efectos secundarios
. Clomipramina (Anafranil) . Imipramina (Tofranil) . Amitriptylina (Elavil, Endep, Tryptizol, Laroxy) . Nortriptylina (Pamelor, Noratren) . Protryptilina (Vivactil) . Maprotilina (Ludiomil) . Amoxapina (Ascendin) . Doxepina (Sinequan, Adapin) . Desipramina (Norpramin, Pertofran) . Trimipramina (Surmontil)	- Depresión severa - Dolor - Fibromialgia - Migraña - Sedante	- Sobrepeso - Riesgo suicidio - Demencia - Enf cardíaca - Medicación múltiple	- Sequedad boca - Visión borrosa - Estreñimiento - Retención urinaria - Sedación - hipotensión ortostática - Vértigo - Aumento de peso - Confusión -Tóxico en sobredosis

*Todos los nombre comerciales son marcas registradas ®

5.1.2. Inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAOs)

La monoamin oxidasa es un enzima cuya función principal es la degradación de neurotransmisores monoaminérgicos como la serotonina, la dopamina o la noradrenalina. Este enzima presenta dos isoformas, la MAO A y la MAO B. La noradrenalina y la serotonina serían degradadas de forma preferente por la MAO A, mientras que la tiramina y la dopamina podrían ser degradadas por ambas isoformas.

Debido a la función de la MAO, los antidepresivos IMAOs aparecieron en los años 50' como fármacos alternativos al uso de antidepresivos tricíclicos ya que eran capaces de aumentar la disponibilidad de serotonina y otras aminas, (Weil-Malherve,

1967). Aunque no presentan demasiados efectos secundarios desagradables, su eficacia antidepressiva es menor, por lo que son utilizados como fármacos de segunda opción en el caso de que el paciente no haya respondido a la medicación con ATCs.

El mecanismo de acción de los IMAOs implica la inhibición de la monoamin oxidasa (MAO), que es el enzima que habitualmente degrada la noradrenalina (entre otras monoaminas) manteniendo la concentración a niveles adecuados en la neurona. Durante un tratamiento con IMAOs ciertos alimentos como el vino tinto, el queso o el chocolate deben ser evitados. Estos alimentos presentan en su composición una amina llamada tiramina cuya función es incrementar la liberación de noradrenalina. Si la MAO se encuentra bloqueada por el antidepressivo, la noradrenalina no es metabolizada, y su exceso puede provocar una peligrosa crisis hipertensiva en el paciente.

Tabla 8. Tipos de IMAOs, usos recomendados y no recomendados en la clínica, y efectos secundarios provocados por estos fármacos.

IMAOs (clasificación) Nombre genérico (comercial)	Uso habitual	Uso-no recomendado en caso de:	Efectos secundarios
<i>Clásicos-irreversibles y no selectivos</i> . Phenilzine (Nardil) . Tranylcypromine (Parnate) . Isocarboxacid (Marplan)	- Depresión atípica - Casos refractarios - Ataques de pánico	- Pacientes que no cumplimentan - Pacientes que no pueden seguir dieta - Insomnio - Agitación	- Hipotensión ortostática - Insomnio - Disfunción sexual - Restricción dietaria - Interacción con otros fármacos - Interacción con alimentos ricos en tiramina.
<i>RIMAs (reversibles)</i> . Moclobemide (Aurorix)			
<i>Inhibidores selectivos de la MAOB</i> . Deprenyl (Selegiline; Eldepryl)			

*Todos los nombre comerciales son marcas registradas ®

Como hemos descrito en la Tabla 8, existen tres tipos de IMAOs. Los primeros en ser descubiertos fueron los IMAOs clásicos y no selectivos que inhiben

de manera irreversible la MAO A. Posteriormente se desarrollaron un nuevo tipo de fármacos llamados RIMAs (Reversible Inhibitors of MAO A), que a diferencia de los anteriores presentaban una unión reversible con el enzima MAO A. Estos fármacos presentan una clara ventaja con respecto a los anteriores, puesto que cuando la noradrenalina alcanza cierta concentración, se produce una competición con el fármaco que, finalmente, acaba siendo desplazado por la adrenalina permitiendo que el enzima degrade el exceso de neurotransmisor acumulado evitándose los efectos secundarios derivados de la unión irreversible. Finalmente, se desarrollaron fármacos que inhibían de forma selectiva la MAO B, aunque la actividad antidepresiva de estos últimos es bastante inapreciable.

5.1.3. Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRSs)

Los ISRSs aparecieron en el mercado como moléculas aprobada para su uso clínico a finales de los años 80', aunque las propiedades farmacológicas de todos ellos ya habían sido objeto de investigaciones exhaustivas desde finales de los años setenta (Wong y cols, 1975; Christensen y cols, 1977; Hyttel, 1977; Buus Lassen, 1978; Claassen, 1983; Koe y cols, 1983).

Se caracterizan por ser moléculas que actúan, principalmente, bloqueando el recaptador de serotonina. El nivel selectivo de los cinco distintos ISRSs sobre el recaptador es variable, siendo el citalopram el fármaco más selectivo y la paroxetina el inhibidor más potente. Como puede observarse en la Figura 2 todos los ISRS, excepto el citalopram, presentan mecanismos de acción que afectan, en mayor o en menor grado, otros sistemas de neurotransmisión (Hyttel, 1977; Maitre y cols, 1982; Koe y cols, 1983; Thomas y cols, 1987).

Figura 2. Principales fármacos antidepresivos inhibidores de la recaptación de serotonina (ISRSs). Acción selectiva sobre receptores neuronales y sistemas metabolizadores enzimáticos.

ISRSs: acción en neurotransmisores, receptores y sist. metabolizadores					
	Citalopram	Fluvoxamina	Fluoxetina	Paroxetina	Sertralina
Inh recapt 5-HT	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑	↑↑↑
Inh recapt NA			↑↑		↑
Inh recapt DA					↑↑
Agonista Sigma		↑			↑
Antagonista M1				↑	
Agonista 5-HT2C			↑		
Inhibe NOS				↑	
Inhibe CYP1A2		↑↑↑	↑		↑
Inhibe CYP2C19		↑↑↑	↑↑↑		↑↑
Inhibe CYP2D6		↑	↑↑↑	↑↑↑↑	↑
Inhibe CYP3A4			↑↑	↑	↑↑

En la Figura 2 se encuentran recogidas las diferentes afinidades e interacciones de estos fármacos con el sistema serotoninérgico y otros sistemas, incluyendo la inhibición de algunos de los enzimas metabolizadores del sistema P450. La inhibición de estos enzimas por parte de los antidepresivos puede interferir directamente en el metabolismo de otras sustancias e incluso de otros fármacos que se estén utilizando concomitantemente, pudiendo provocar interacciones farmacológicas no deseables o efectos secundarios tóxicos.

La principal ventaja de estos fármacos con respecto a todos los anteriores es la mejora introducida con respecto a la tolerancia y seguridad.

Los ISRSs no provocan efectos anticolinérgicos o toxicidad cardíaca, por lo que la cumplimentación del tratamiento por parte del paciente es mucho más alta. Otra de las ventajas del ISRS reside en su amplio perfil terapéutico, que se extiende

más allá de la acción antidepresiva. Se ha demostrado que los ISRS presentan una alta eficacia en el tratamiento de enfermedades como la bulimia, el trastorno de pánico, el trastorno obsesivo-compulsivo (TOC) o la anorexia nerviosa. También se han obtenido resultados muy prometedores en el tratamiento de la fobia social, el estrés post-traumático, el trastorno disfórico premenstrual, la migraña o la distimia.

Sin embargo, ciertas evidencias clínicas ponen de manifiesto que los ISRSs no sería especialmente efectivos en las depresiones severas prefiriéndose, en estos casos, el uso de fármacos de efecto dual (serotoninérgico y noradrenérgico) como los ATCs, la venlafaxina o la mirtazapina (Anderson, 2000).

A pesar del menor número e intensidad de los efectos secundarios asociados a los ISRSs, éstos deben igualmente ser considerados. Algunos de ellos se recogen en la Tabla 9.

Tabla 9. Tipos de ISRSs, usos recomendados y no recomendados en la clínica, y efectos secundarios provocados por estos fármacos.

ISRSs Nombre genérico (comercial)	Uso habitual	Uso-no recomendado en caso de:	Efectos secundarios
<ul style="list-style-type: none"> . Citalopram (Seropram, Prisdal) . Fluvoxamina (Dumirox) . Fluoxetina (Prozac, Adofen, Nodepe, Reneuron) . Paroxetina (Casbol, Frosinor, Motivan, Seroxat) . Sertralina (Aremis, Besitran) 	<ul style="list-style-type: none"> -Depresión Mayor - T. pánico - T.O.C - Bulimia - T. ansiedad 	<ul style="list-style-type: none"> - Disfunción sexual -Pérdida de eficacia, por tto a largo plazo - Myoclonus nocturno - Insomnio - Agitación 	<ul style="list-style-type: none"> - Agitación - Akatisia - Ansiedad - Ataque de pánico - Insomnio - Disfunción sexual - Nauseas - Diarrea - Dolor de cabeza -Pérdida de efecto a largo plazo

*Todos los nombre comerciales son marcas registradas ®

Con el éxito de los antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), la tendencia en la investigación de la fisiopatología de la

depresión se ha centrado en el sistema serotoninérgico, en detrimento del noradrenérgico.

La experiencia terapéutica con ISRS, como ya se ha señalado, sugiere que podrían ser más efectivos que algunos de los antidepresivos tricíclicos para el tratamiento de otros trastornos como la distimia, el trastorno de ansiedad, el trastorno de pánico y el trastorno obsesivo-compulsivo (Tabla 9).

Sin embargo existe una percepción general de que los ISRS podrían ser muchos menos eficaces que los tricíclicos en aquellos pacientes diagnosticados de una depresión grave con síntomas melancólicos probablemente debido a la falta del componente noradrenérgico en estos fármacos (Danish University Antidepressant Group (Group, 1986, 1990; Anderson, 2000)). Igualmente, en el caso de depresión atípica se ha visto que resulta mucho más eficaz el tratamiento con inhibidores de la monoamina oxidasa (IMAOs), y en el caso de la depresión psicótica la terapia habitual suele basarse en asociación de un antidepresivo y un neuroléptico (en dosis menores a las habituales en otros trastornos psicóticos) o, en determinados casos, terapia electroconvulsiva (TEC) (Travé Rodríguez and Reneses Sacristan, 2002).

5.1.4. Otros fármacos antidepresivos

A. SNRI: Venlafaxina

La venlafaxina es un inhibidor dual de la recaptación de la serotonina y de la noradrenalina. En dosis altas, además, puede actuar como inhibidor de la recaptación de dopamina.

Su perfil farmacológico depende en gran medida de la dosis a la que se utilice. En general, si se utiliza a dosis bajas su efecto es comparable al de los ISRSs. A dosis medias, bloquea la recaptación tanto de serotonina como de

noradrenalina, y cuando se aplican a dosis altas, además, bloquea la recaptación de dopamina.

B. SARI: Nefadona

La nefadona es un antagonista de los receptores serotoninérgicos, y un inhibidor de la recaptación. Actúa como un potente bloqueante de los receptores 5HT_{2A}, combinando una acción antagonista α_1 , con una acción inhibidora de la recaptación de serotonina y noradrenalina. La nefadona actuaría tanto a nivel presináptico como postsináptico.

C. NaSSA: Mirtazapina

La mirtazapina es un antidepresivo serotoninérgico y noradrenérgico. El efecto terapéutico más importante que presenta con respecto al tratamiento de la depresión es el antagonismo versus el receptor alfa 2. Este antagonismo provoca una desinhibición de las neuronas noradrenérgicas y serotoninérgicas con el consecuente aumento de la neurotransmisión. El resto de las propiedades farmacológicas de este antidepresivo están basadas en el antagonismo de los receptores 5-HT₂ y 5-HT₃, lo que probablemente es la causa directa de que la mirtazapina sea mejor tolerada que los agentes no selectivos de la serotonina. Finalmente, este fármaco presenta una potente acción antihistaminérgica, lo que contribuye a reducir, por un lado, el efecto ansiogénico provocado por el incremento en la neurotransmisión noradrenérgica, aunque por otro lado provoque aumento de peso y sedación.

D. NDRI : Bupropión

El Bupropión es un Inhibidor de la recaptación de noradrenalina y dopamina, y habitualmente se utiliza exclusivamente en U.S.A.

5.1.5. Fármacos antidepresivos y periodo de latencia en la respuesta

Uno de los principales problemas asociados al tratamiento antidepresivo en general, y al los ISRSs en particular, es el periodo de tiempo necesario para que el efecto terapéutico se traduzca en una mejora significativa de la sintomatología clínica del paciente. Para que este efecto se produzca es necesario un periodo de latencia que, habitualmente, es de 4-6 semanas (Montgomery, 1997). Este retraso inicial es debido a mecanismos adaptativos neurobiológicos secundarios de la neurona que se activan una vez el ISRS ha bloqueado de manera selectiva el transportador de serotonina, principal diana terapéutica de estos fármacos.

El transportador de serotonina es la molécula encargada de recaptar el exceso de serotonina en la intersinapsis e internalizarla de nuevo en la neurona pre-sináptica. Una vez el transportador es bloqueado por el fármaco, se producen diversas adaptaciones neuronales que abarcan desde cambios presinápticos en la actividad de neuronas monoaminérgicas, hasta cambios post-sinápticos en las áreas cortico-límbicas que posiblemente implican cambios en la expresión de diferentes genes.

Actualmente, una de las hipótesis más aceptadas para explicar este hecho está directamente relacionada con la desensibilización del autoreceptor somatodendrítico de serotonina 5-HT_{1A}, localizado en los núcleos del rafe del cerebro medio. La función de estos autorreceptores es reducir la actividad eléctrica de las neuronas serotoninérgicas mediante la apertura de una canal de potasio produciéndose la consiguiente hiperpolarización neuronal (Aghajanian and Lakoski, 1984; Sprouse and Aghajanian, 1986; Blier y cols, 1987; Sprouse and Aghajanian, 1987).

La mayor parte de los antidepresivos incrementan la concentración de serotonina en las sinapsis. El incremento de serotonina intersináptica provoca la activación de un sistema de retroalimentación negativa mediado por el receptor somatodendrítico 5-HT_{1A} cuyo resultado es la inhibición de la transmisión de la señal neuronal y la reducción de la liberación de serotonina en el cerebro (Artigas y cols, 1996). Después de un tratamiento crónico con antidepresivos, el receptor 5-HT_{1A} se desensibiliza y la inhibición sobre la liberación de serotonina disminuye, aumentándose, de nuevo, los niveles de neurotransmisión, hecho que coincidirá con la elevación del humor en los pacientes depresivos (Stahl, 1998; Raap y cols, 1999; Cremers y cols, 2000; Hervas y cols, 2001; Kantor y cols, 2001).

Dada la importancia que el fenómeno de latencia en la respuesta clínica adquiere en el tratamiento farmacológico con antidepresivos, en general, y con ISRSs en particular, es necesario que los estudios de tipo farmacogenético, y tal y como veremos en los siguientes capítulos, sean diseñados teniendo en cuenta este efecto. Un seguimiento a largo plazo es recomendable para poder detectar el verdadero efecto farmacológico del antidepresivo.

5.2 Psicoterapia

Se puede definir la psicoterapia como un tratamiento psicológico informado y planificado en el que, habitualmente, se utiliza la interacción verbal. La psicoterapia se utiliza en el tratamiento de diversos trastornos mentales, en los trastornos de la personalidad y en cualquier otra condición que sea considerada no adaptativa para el individuo. Para algunos pacientes con depresión, la psicoterapia puede ser el tratamiento de elección; en algunos casos porque el paciente prefiere no tomar

medicación, y en otros, porque existen problemas de tipo personal que podrían mejorar, simplemente, con una intervención psicoterapéutica adecuada.

La psicoterapia puede ser muy efectiva como modalidad única de tratamiento en aquellos pacientes que presenten un trastorno depresivo entre leve y moderado (DiMascio y cols, 1979; Elkin y cols, 1989; Hollon y cols, 1992; Persons y cols, 1996). En depresiones más graves, la combinación farmacoterapia-psicoterapia puede dar mejores resultados que una terapia única (Thase y cols, 1997). Aunque, existe una tendencia, promulgada básicamente por el propio sistema de salud, de minimizar la importancia de la psicoterapia a favor del tratamiento farmacológico, a veces no es suficiente con realizar una rápida entrevista clínica y recetar un determinado fármaco. La psicoterapia puede cubrir los vacíos emocionales del paciente que no pueden ser tratados con la farmacoterapia.

Tabla 10. Modalidades de psicoterapia utilizadas en depresión mayor

Tipo de psicoterapia	Características
Interpersonal	Se centra en el alivio de los síntomas a través de una mejora en las relaciones interpersonales.
Cognitivo conductual	Se centra en el alivio de los síntomas a través de la corrección de pensamientos negativos y/o actitudes sociales negativas
Psicoanalítica	Promueve una modificación de la personalidad a través del análisis de los conflictos emocionales conscientes e inconscientes.

5.3 Terapia Electroconvulsiva (TEC)

El tratamiento con terapia electroconvulsiva (TEC) está indicado en pacientes graves, específicamente en aquellos que presentan depresión grave con alto riesgo suicida, depresión refractaria (es decir, que no ha respondido a ningún tratamiento farmacológico), depresión psicótica, depresión agitada y en la depresión catatónica. Según diversos estudios, en aquellos casos en que el tratamiento con TEC es necesario, se ha visto que los pacientes tratados experimentan una mejoría en la sintomatología depresiva de hasta el 70-80% con respecto a aquellos pacientes graves que han seguido otro tipo de terapia no electroconvulsiva (Janicak y cols, 1985; Gangadhar and Janakiramaiah, 1993; Zornberg and Pope, 1993).

Aunque el mecanismo de acción de la TEC es desconocido, se hipotetiza que los cambios biológicos que resultan de la terapia electroconvulsiva, acaban produciendo un cambio en la química del cerebro, lo que parece ser clave en la restauración de las funciones normales. Durante el procedimiento los pacientes se encuentran bajo anestesia general y, además, se les administra un relajante muscular para asegurar que durante la convulsión sólo ocurra una contracción mínima de los músculos. El tratamiento consta, habitualmente, de dos a tres series de TECs por semana, durante varias semanas, y es realizado por un equipo clínico cualificado. La percepción del público acerca de la TEC está frecuentemente basada en representaciones erróneas que presentan este tratamiento como un procedimiento doloroso, utilizado para controlar o castigar a los pacientes; sin embargo esta idea preconcebida no tienen ningún parecido con la TEC que se practica en la actualidad según directrices profesionales aceptadas.

Los efectos secundarios de la terapia electroconvulsiva se pueden manifestar a corto plazo y pueden causar daños transitorios en las funciones cognitivas, sobre

todo en lo referente a la pérdida de memoria. Esta pérdida se refiere, generalmente, a eventos previos al tratamiento y suele recuperarse en pocas semanas (Sackeim y cols, 1992), excepto en algún caso en el que se han descrito pérdidas de memoria de larga duración. Aún en estos casos, la pérdida de memoria no interfiere en el funcionamiento mental del individuo, no suele causar un déficit persistente en la formación de nueva memoria y tampoco interfiere en determinadas funciones cognitivas como la inteligencia (Sackeim y cols, 1992; Sackeim y cols, 1993; Sackeim y cols, 2000). Asimismo, tampoco existen evidencias claras de que la TEC cause daños cerebrales (Devanand y cols, 1994).

II. ETIOPATOGENIA Y DEPRESIÓN- I

"By an apparent contradiction, it maintains its stability only if it is excitable and capable of modifying itself according to external stimuli, and adjusting its response to the stimulation. In a sense it is stable because it is modifiable-the slight instability is the necessary condition for the true stability of the organism"

W.B. Cannon, 1929

1. FISIOPATOLOGÍA DE LA DEPRESIÓN: Hipótesis biológicas actuales

Desde el modelo médico, la etiopatogenia o causa del trastorno depresivo mayor, y de la mayoría de los trastornos afectivos, se ha relacionado tanto con factores de riesgo biológicos como psicosociales. Entre los primeros se han implicado, fundamentalmente, los de tipo genético, mientras que entre los factores psicosociales se encontrarían los relacionados con el tipo de personalidad del individuo, presencia de acontecimientos vitales estresantes, indefensión aprendida y otros factores cognitivo-conductuales (Jefferson and Greist, 1996; Gasto, 1998).

Entre los factores biológicos implicados en la fisiopatología de la depresión, las alteraciones en vías de transmisión monoaminérgicas, principalmente serotonina y noradrenalina, han sido las más demostradas (Bunney and Davis, 1965; Schildkraut, 1965; Coppen, 1967; Quintana, 1992; Risch and Nemeroff, 1992; Owens and Nemeroff, 1994; Potter and Manji, 1994; Pandey, 1997). Sin embargo, y aunque en la actualidad siguen siendo dos de las hipótesis más aceptadas, a medida que aumenta el conocimiento de la enfermedad y de los mecanismos moleculares subyacentes, van surgiendo otras hipótesis que complementarían a las anteriores.

La compleja regulación de la síntesis del neurotransmisor, de su liberación en la sinapsis neuronal, de la interacción con los receptores pre y post sinápticos, y la interacción de estos receptores con segundos y terceros mensajeros, así como los efectos que las interacciones de estos receptores tienen en la expresión génica, sería el telón de fondo de las nuevas hipótesis etiopatogénicas en depresión (Charney y cols, 1990).

Así, nuevos datos sugieren que las alteraciones en la función de los sistemas de neurotransmisores del SNC podrían ocurrir debido a cambios que se producen en la sensibilidad de los receptores pre- sinápticos y post-sinápticos, sin que exista una alteración directa de la cantidad de neurotransmisor, por lo que la hipótesis de la deficiencia ha sido ligeramente modificada proponiéndose la "hipótesis de la sensibilidad de los receptores". Esta hipótesis se basa en las evidencias que muestran que el retraso en la acción de los antidepresivos estaría relacionado con alteraciones tiempo-dependientes en la sensibilidad de los receptores del sistema catecolaminérgico e indolaminérgico, lo que indirectamente implicaría que la patofisiología de la depresión estaría más relacionada con una regulación anormal de la sensibilidad de los receptores que con deficiencias en los neurotransmisores (Charney y cols, 1981).

Desde un punto de vista similar, se propuso a mediados de los ochenta la "hipótesis de la desregulación". Siever and Davis defendían que los mecanismos reguladores y homeostáticos que controlan la función neurotransmisora estarían desregulados en los trastornos afectivos, y que por tanto, los agentes farmacológicos lo que harían sería restablecer la regulación normal de estos sistemas (Siever and Davis, 1985).

Finalmente, otra de la hipótesis de trabajo más ampliamente desarrollada propone que serían los circuitos cerebrales encargados de controlar la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) y su respuesta al estrés, los elementos involucrados en la fisiopatología del trastorno depresivo (Nemeroff, 1996; Connor and Leonard, 1998; Nemeroff, 1998; Plotsky y cols, 1998; Holsboer, 2000; O'Connor y cols, 2000). De manera muy resumida, podemos recordar que la mente reacciona a situaciones de estrés activando un complejo repertorio de respuestas adaptativas tanto en el sistema nervioso central como en el periférico (Chrousos and Gold, 1992). Las respuestas que son adaptativas y adecuadas suelen ser aquellas específicas para un determinado estresor, aunque en ocasiones esta especificidad puede disminuir si el estresor excede un determinado umbral de magnitud.

Alteraciones en la habilidad del organismo para responder a factores estresantes, ya sea porque se provocan respuestas excesivas o bien inadecuadas (tanto en duración como en magnitud), pueden acabar provocando diferentes tipos de trastornos, tales como la depresión. De hecho, una actividad prolongada y excesiva del sistema que regula el estrés es característica de la depresión con síntomas melancólicos, cuyos síntomas cardinales representan los extremos de las manifestaciones clásicas que aparecen en la respuesta generalizada al estrés: supresión de la sensación de hambre (anorexia), supresión de la actividad sexual (pérdida de la libido), redirección de energía excesiva y prologada (taquicardias, hipertensión) (Gold y cols, 1988).

Asimismo, hay que señalar que la existencia de una asociación entre la secreción incrementada de CRH (hormona liberadora de corticotropina), la activación crónica del eje HHA y los trastornos afectivos parecen confirmarse tanto desde estudios animales (Owens y cols, 1991; Coplan y cols, 1996; Rosenblum y

cols, 2002) como humanos (Owens and Nemeroff, 1993; Weiss y cols, 1994; Hucks y cols, 1997; Catalan y cols, 1998; Reul and Hoisboer, 2002; Bissette y cols, 2003).

Sin embargo, la hipótesis de un sistema serotoninérgico disfuncional en la depresión es la que se encuentra más ampliamente aceptada por la comunidad científica especializada y supondrá el modelo teórico y etiopatogénico sobre el que se desarrollará la presente Tesis.

1.1 Sistema Serotoninérgico y Sistema nervioso central

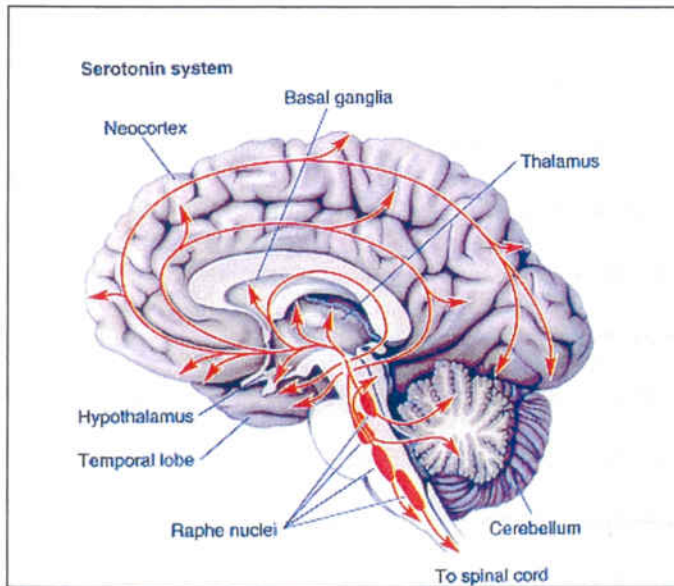
La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es una indolamina que está presente tanto en plantas como en animales. Concretamente en mamíferos se localiza, básicamente, en tres lugares: aproximadamente el 90% se aloja en el tracto intestinal, donde interviene en la contracción del músculo liso; el 8% del total se encuentra en plaquetas, donde interviene en la agregación plaquetaria; y el 1% restante se encuentra en las terminales nerviosas cerebrales donde actúa como neurotransmisor (Bradley, 1989).

Las células productoras de serotonina se encuentran ampliamente distribuidas en el cerebro. De manera esquemática este tipo de neuronas se sitúan en: i) la amígdala, región implicada en el control de las emociones, ii) el hipotálamo, involucrado en el control del apetito, de la libido y del sueño, iii) y en distintas áreas corticales que participan en la cognición y en otros procesos de asociación superiores. Como ya hemos visto anteriormente, muchos de estos procesos se encuentran alterados en individuos que sufren una depresión mayor (Leonard, 1997).

Todas las células serotoninérgicas proceden, inicialmente, de los núcleos del rafe, situados en el tronco del encéfalo apical y agrupados principalmente en dos grupos: el inferior y el superior (Dahlstrom and Fuxe, 1964) (Figura 3).

El llamado grupo inferior proyecta principalmente hacia el tronco, hacia determinados nervios craneales y hacia la medula espinal. Debido a su localización, estas neuronas juegan un papel clave en la regulación de la actividad motora, la función autonómica y la nocicepción.

Figura 3. Sistema serotoninérgico.



El sistema serotoninérgico se origina a partir de los núcleos del rafe (localizados a lo largo de toda la línea media del cerebro) proyectándose a todos los niveles del sistema nervioso central.

Las neuronas del grupo superior (B5-B9) proyectan rostralmente hacia el sistema límbico y la corteza cerebral. Dentro de este grupo superior encontramos los *núcleos del rafe medio* y los *núcleos del rafe dorsal*. Ambos grupos, aún

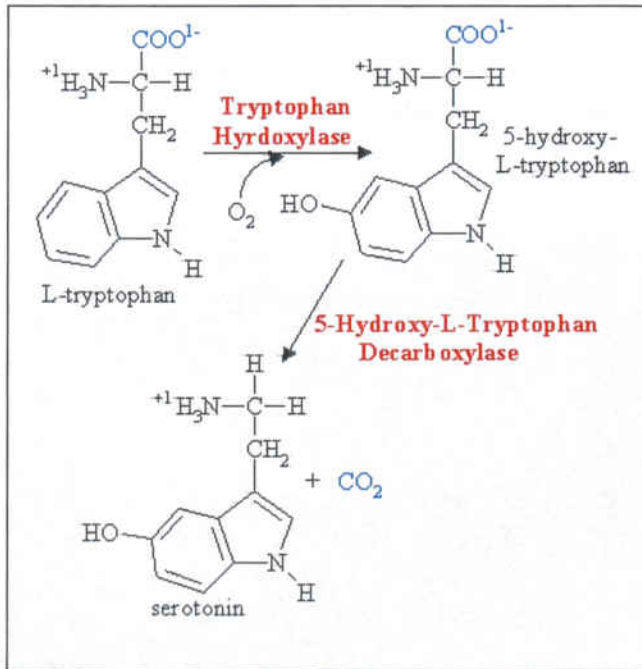
perteneciendo al mismo tipo de sistema, presentan diferencias en la morfología, densidad y orientación de los terminales serotoninérgicos. Las neuronas del *rafe medio* se proyectan hacia el hipocampo y hacia el septum y sus axones son gruesos, mielinizados, con grandes varicosidades esféricas y con pocas terminaciones sinápticas; en cambio, las neuronas procedentes del *rafe dorsal* que proyectan hacia los ganglios basales y hacia cerebelo, presentan axones finos con pequeñas varicosidades pleomórficas, densamente ramificados y con un alto número de terminaciones. La existencia de este tipo de diferencias podría implicar, según distintos autores, la existencia de características funcionales y farmacológicas específicas de ciertas zonas cerebrales de dominio serotoninérgico (Wilson and Molliver, 1991; Puri and Tyrer, 1992).

En general, podemos decir que las neuronas serotoninérgicas han evolucionado como un sistema de regulación general para responder a estímulos externos a través de modificarse ellas mismas de manera continua. Las fluctuaciones en los niveles de serotonina se transmitirían a todo el cerebro y servirían para integrar y estabilizar de una manera dinámica la estructura y la función del SNC frente a *inputs* ambientales de muy distinta naturaleza (Azmitia, 1999). Cuando las fibras serotoninérgicas son eliminadas de un área del cerebro, tanto la estructura como la función de esa región quedan comprometidas. Por esas razones, la pérdida de serotonina en el cerebro maduro puede modificar la adaptabilidad y la estabilidad del tejido neural (neuronas, glia, vascular) a la hora de responder de una manera dinámica y efectiva a estímulos que provenga de un ambiente externo; el resultado de la pérdida de esta homeostasis neuronal podría ser la causa de la enfermedad mental (Azmitia, 1999).

1.1.1. Síntesis y degradación de la serotonina en el Sistema Nervioso Central

El neurotransmisor serotonina, también llamado 5-hidroxitriptamina (5-HT), es sintetizado a partir del aminoácido triptófano, que se transforma en 5-hidroxitriptófano (5-HTP) por acción del enzima *triptófano hidroxilasa*. El 5-HTP será, a su vez, modificado por la 5-HTP descarboxilasa, obteniéndose de esta manera la serotonina (ver Figura 4 para más detalle).

Figura 4. Síntesis de la serotonina. El enzima Triptófano hidroxilasa es el enzima clave y limitante de la síntesis de este neurotransmisor.

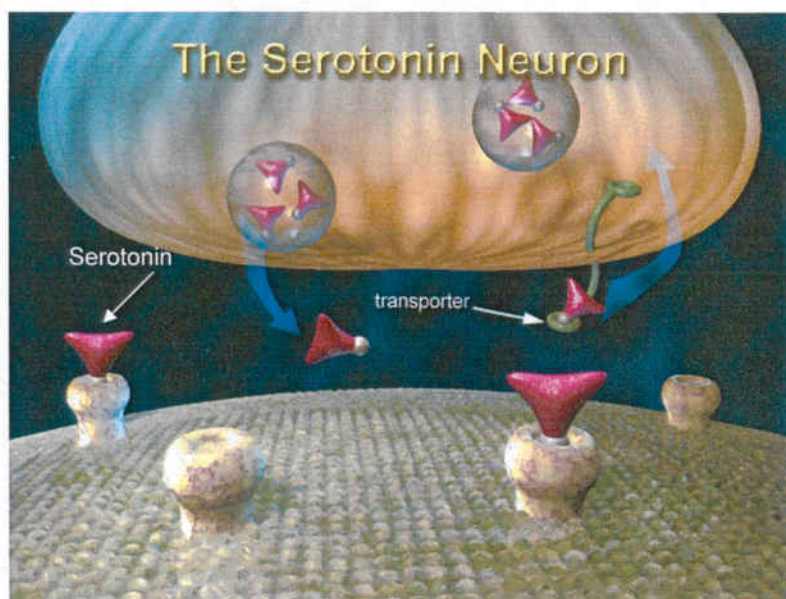


La serotonina es sintetizada tanto en el soma como en los terminales neuronales. Una vez fabricada es almacenada en vesículas y transportada hasta los terminales en el interior de vesículas, que mediante un proceso calcio-dependiente, la liberarán al espacio intersináptico. Existen algunas evidencias de que receptores

para otros neurotransmisores, localizados en los terminales de las neuronas serotoninérgicas, también podría modular la liberación de serotonina. Algunos de estos receptores podrían ser el receptor nicotínico, que incrementa la liberación desde los sinaptosomas estriados, o los α_{2A} -adrenoreceptores, que deprimen la liberación cortical (Stanford, 2001).

Una vez la serotonina es liberada a la sinapsis por el terminal pre-sináptico activa a los receptores serotoninérgicos post-sinápticos, que a su vez acabarán activando o inhibiendo toda una cascada de segundos mensajeros, como veremos posteriormente.

Figura 5. Representación gráfica de una sinapsis serotoninérgica. La serotonina, almacenada en vesículas, es vertida al espacio intersináptico donde se unirá a los diferentes receptores postsinápticos para la transmisión de la señal. La serotonina es inactivada por un mecanismo de recaptación hacia el interior de la neurona pre-sináptica



Finalmente, después de su liberación, la serotonina es inactivada por un mecanismo de recaptación hacia el interior de la neurona presináptica. Este proceso es realizado gracias al transportador de serotonina cuyo mecanismo de transporte es Na⁺/K⁺ dependiente de ATP (Marsden, 1991). Una vez en el interior de la neurona, la serotonina es almacenada de nuevo dentro de vesículas o es metabolizada por el enzima monoamin oxidasa A (MAOA), que actúa también sobre la noradrenalina, dopamina y tiramina.

1.1.2. Receptores de serotonina

Gaddum y Piccarelly (1957) fueron los primeros en sugerir la existencia de más de un tipo de receptor serotoninérgico.

Hasta la actualidad han sido descritos 17 subtipos diferentes de receptores serotoninérgicos, distribuidos en 7 familias: 5-HT_{1A/1B/1D/1E/1F}, 5-HT_{2A/2B/2C}, 5-HT_{3A/3B}, 5-HT_{4A/4B}, 5-HT_{5A/5B}, 5-HT₆ y 5-HT_{7A/7B}. Estudios neurofisiológicos y farmacológicos han mostrado que los receptores 5-HT pueden actuar tanto a nivel presináptico como postsináptico, y de modo excitatorio o inhibitorio.

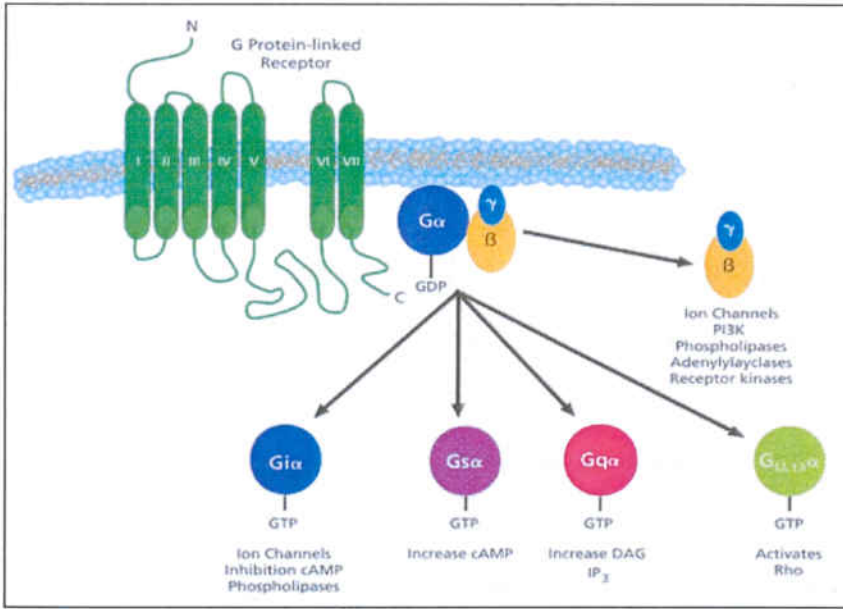
Una de las cuestiones que actualmente siguen en discusión es el por qué de la existencia de tantos subtipos de receptores serotoninérgicos. Inicialmente, la existencia de tantos subtipos de receptores fue atribuida a un origen previo a la separación entre invertebrados y vertebrados, sin embargo este hecho no explicaría la razón de que actualmente sigan existiendo (Peroutka, 1994). Algunos autores sostienen que esta gran variabilidad de receptores está relacionada con una localización diferencial a nivel celular (Hen, 1992). De hecho la distribución diferencial contribuiría, en gran manera, al papel multifuncional que los receptores de serotonina juegan en el funcionamiento neuronal. Sin embargo, esta hipótesis no

parece suficiente a la hora de explicar la gran multiplicidad de receptores y sus funciones asociadas puesto que diferentes receptores pueden co-existir en la misma localización anatómica (Pazos and Palacios, 1985; Pazos y cols, 1987).

Más recientemente, la diversidad de este tipo de receptores se ha relacionado con la alta flexibilidad del organismo en su respuesta a la serotonina, facilitando su adaptación durante cambios fisiológicos y ambientales. Según Uphouse (1997) existirían varias características distintivas que justificarían la existencia de una multiplicidad de receptores: i) la serotonina presenta diferente afinidad y potencia para los diferentes subtipos de receptores, ii) los diferentes tipos de receptores utilizan múltiples vías de transducción (cambios cualitativos en la señal intracelular), iii) los diferentes subtipos difieren con respecto desensibilización/downregulation mediada por agonista, y, iv) existiría una respuesta diferencial por parte de los receptores a cambios en el ambiente fisiológico. Estas características proporcionarían a la neurona la capacidad, para decodificar no sólo la intensidad de la señal que recibe la célula sino también el patrón de la señal que se transmite vía segundos mensajeros (Uphouse, 1997).

Actualmente, y para la mayoría de receptores serotoninérgicos, el mecanismo de acción es bien conocido. Todos ellos son receptores metabotrofos, es decir, son receptores de 7 dominios transmembrana que actúan a través de proteína G, excepto en el caso del receptor 5-HT₃, que es un canal de Na⁺/K⁺ no selectivo.

Figura 6. Representación esquemática de un receptor metabotrope y su mecanismo de acción vía segundos mensajeros



Receptores de serotonina 5-HT₁

Existen como mínimo cinco tipos de receptores dentro de la familia 5-HT₁. Todos ellos son receptores de siete dominios transmembrana acoplados a proteína G (via Gi o Go), que varían entre 365 y 422 amino ácidos y son codificados por genes que no presentan intrones.

- *Receptor 5-HT_{1A}:*

Este tipo de receptores se localizan en el SNC, concretamente aparecen con densidades altas en zonas como el hipocampo, el septum, la amígdala y el área límbica cortical. En estas zonas los receptores se localizan en la zona post-sináptica de la neurona, mientras que los que están situados en los núcleos del rafe actúan como autoreceptores somatodendríticos (Glennon and Westkaemper, 1993; Raurich y cols, 1999).

La función principal de estos autoreceptores sobre las neuronas serotoninérgicas del rafe es inhibitoria, disminuyendo la actividad eléctrica de estas células y, en consecuencia, la liberación de serotonina en las terminales sinápticas (VanderMaelen y cols, 1986).

En numerosos estudios pre clínicos y clínicos, el agonismo de este receptor ha sido relacionado con propiedades ansiolíticas y antidepresivas (Stahl y cols, 1992; De Vry, 1995), así como con anti-agresividad (De Vry y cols, 1991). Otros efectos relacionados con este receptor tienen que ver con el control del comportamiento

La implicación de este receptor en ciertas respuestas endocrinas también ha sido ampliamente estudiada. Estudios recientes ponen de manifiesto que situaciones agudas y prolongadas de estrés podrían ejercer un down-regulation, al menos de manera transitoria, en la expresión de mRNA del gen HTR1A en el hipocampo (Lopez y cols, 1999). Asimismo, ha sido sugerido que las respuestas *in vivo* mediadas por el receptor 5-HT_{1A} hipocampal podrían ser atenuadas cuando existe una activación del receptor mineralocorticoide e incrementadas en respuesta a una activación adicional del receptor de glucocorticoides (Meijer y cols, 1998).

- *Receptor 5-HT_{1B}:*

Los receptores serotoninérgicos de tipo 1B no están presentes en el cerebro de primates, únicamente en el de los roedores (Prazos y cols, 1988). El receptor análogo en primates podría ser el 1D (Schlicker y cols, 1989).

- *Receptor 5-HT_{1D}:*

Estos receptores están presentes en altas concentraciones en los ganglios basales, el córtex y el hipotálamo (Prazos y cols, 1988). Existen de hecho dos subtipos de receptores 1D, el 5-HT_{1D α} y el 5-HT_{1D β} , que presentan un 77% de homología de secuencia y propiedades farmacológicas prácticamente indistinguibles (Hartig y cols, 1992).

Este receptor parece estar implicado en ansiedad, depresión y otros trastornos neuropsiquiátricos aunque todavía no existen evidencias claras. Por el contrario, si parece estar claramente relacionado con los efectos anti-migraña del sumitriptan (agonista) (Glennon and Westkaemper, 1993).

- *Receptor 5-HT_{1E}/5-HT_{1F}/5-HT_{1S}:*

Los receptores 5-HT_{1E} se encuentran localizados, principalmente, en el putamen caudado, aunque también puede encontrarse, en menores concentraciones, en la amígdala, el globus pallidus y en el córtex frontal (Hoyer y cols, 1994). Esta proteína presenta poca afinidad para la mayoría de agentes serotoninérgicos (Leonhardt y cols, 1989). En la actualidad sus posibles funciones fisiológicas y farmacológicas siguen siendo investigadas.

Finalmente, los receptores 5-HT_{1F} y 5-HT_{1S} han sido ya clonados aunque su importancia fisiológica todavía no ha sido determinada (Zemlan and Schwab, 1991; Adham y cols, 1993).

Receptores de serotonina 5-HT₂

En base a estudios funcionales con agonistas y antagonistas, afinidades de unión ligando, estructura molecular y mecanismos de transducción intracelular, se ha visto

que la familia de receptores de serotonina 2A consta de tres subtipos: 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} y 5-HT_{2C}. Todos ellos están acoplados a proteína G, que a su vez están ligadas al metabolismo de los fosfoinositoles (Boess and Martin, 1994; Martin and Humphrey, 1994).

- *Receptores 5-HT_{2A}*

Este tipo de receptores están localizados tanto a nivel periférico como central (ver Herndon and Glennon, 1993). Periféricamente se sitúan en tejido vascular, bronquial, urinario, muscular liso y en plaquetas, y su función está directamente relacionada con la vaso- y bronco constricción y la agregación plaquetaria.

En el SNC, se localizan, predominantemente, en neuronas post-sinápticas no serotoninérgicas del neocortex, claustrum, núcleo olfatorio y ganglios basales donde suprimen el disparo celular a nivel prefrontal medio, inhibiendo la liberación de neurotransmisores (glutamato, dopamina, acetilcolina y noradrenalina), así como regulando los ciclos del sueño (Staner y cols, 1992) y las respuestas endocrinas (Pranzatelli and Eng, 1989).

La estimulación de los receptores 5-HT_{2A} a nivel central en roedores causa temblores de cabeza y en el ser humano puede mediar los efectos de halucinógenos como el LSD (Hoyer y cols, 1994).

Estos receptores han sido implicados en gran número de trastornos del SNC, como la depresión, la esquizofrenia y otras psicosis y en desórdenes del sueño (Biegon y cols, 1987; Yates y cols, 1990).

- *Receptores 5-HT_{2B}*

Estos receptores están localizados periféricamente en el estómago, hígado, riñones, músculo e intestino (Foguet y cols, 1992; Kursar y cols, 1994). Estudios de expresión con mRNA han mostrado que, en cerebro, el receptor 5-HT_{2B} está presente en regiones discretas del córtex (Kursar y cols, 1994; Bonhaus y cols, 1995). Los receptores 5-HT_{2B} son receptores ligados a fosfolipasa A y provocan un efecto excitatorio en la célula como resultado de una reducción de la conductancia de K⁺. Estudios preclínicos apoyan la teoría de que la activación del receptor 5-HT_{2A} (y posiblemente el 5-HT_{2C} también) es la causa de los efectos alucinógenos de algunos compuestos como el LSD (Krebs-Thomson y cols, 1998). Estos resultados serían consecuentes con los recientes hallazgos que muestran que los neurolépticos atípicos, como la clozapina, risperidona y olanzapina, actuarían como antagonistas de estos receptores, lo que podría contribuir a sus efectos terapéuticos en la esquizofrenia. Finalmente, y al igual que el 5-HT_{1D}, este receptor también parece jugar un papel en el origen de la migraña (Mylecharane, 1991).

- *Receptores 5-HT_{2C}*

Los receptores 5-HT_{2C} (previamente llamados 5-HT_{1C}) fueron inicialmente caracterizados en el plexo coroide y en con una densidad menor en la sustancia negra, globus pallidus, cortex cerebral y tubérculos olfativos.

Son receptores post-sinápticos en neuronas no serotoninérgicas y se hipotetiza que podrían estar implicados en la producción de líquido cefalorraquídeo (LCR) y transferrina (Hartig, 1989; Tsutsumi and Sanders-

Bush, 1990), en hipolocomoción (Kennett and Curzon, 1991), así como en el inicio de los ataques de migraña (Fozard, 1992).

Receptores de serotonina 5-HT₃

Los receptores 5-HT₃ se localizaron inicialmente en el sistema nervioso periférico y posteriormente en el SNC, en concreto en el área postrema, córtex entorrinal, córtex frontal e hipocampo (Julius, 1991).

Este tipo de receptores son los únicos que, dentro de la familia de receptores serotoninérgicos, presentan una morfología de canal iónico Na⁺/K⁺, lo que permite que realicen una función de modulación de la transmisión sináptica rápida (Maricq y cols, 1991).

Los antagonistas de estos receptores son utilizados como anti-eméticos. Los estudios animales sugieren que el bloqueo del 5-HT₃ por antagonistas podría mejorar la memoria, además de provocar efectos ansiolíticos (Kilpatrick y cols, 1990). Estos receptores podrían estar implicados en el control de la liberación de dopamina, así como, posiblemente, de acetilcolina. También podrían funcionar como mecanismo de control sobre el sistema gabaérgico (Zifa and Fillion, 1992).

Receptores de serotonina 5-HT₄

La localización de estos receptores en áreas del cerebro de ratones como el estriado, los ganglios basales y el núcleo accumbens, sugiere que podrían estar asociados a una función dopaminérgica (Patel y cols, 1995). Por otro lado, Bockaert y colaboradores (Bockaert y cols, 1994) sugirieron que estos receptores podrían jugar un rol esencial en procesos de plasticidad sináptica y en los procesos de memoria. La localización de estas proteínas en estructuras límbicas, sugiere,

asimismo, un posible papel en los procesos emocionales y de recompensa, mientras que la expresión en ganglios basales y sustancia negra indicaría una posible función en el control de la actividad visual-motora.

Receptores de serotonina 5-HT₅

Han sido clonados dos receptores de este tipo, el 5-HT_{5A} y el 5-HT_{5B}, y aunque la secuencia aminoacídica no parece estar relacionada con el resto de receptores de serotonina, presentan propiedades farmacológicas equivalentes a las del receptor 5-HT_{1D} (Plassat y cols, 1992).

Estudios de expresión de mRNA en rata, han localizado estos receptores en córtex, hipocampo, habénula, bulbo olfatorio y cerebelo (Hoyer y cols, 1994). Estudios preliminares sugieren que ambos subtipos de receptores no parecen estar acoplados eficientemente a proteína G, por lo que se hipotetiza que podrían estar acoplados a canales de iones (Matthes y cols, 1993). Se han propuesto funciones similares a las del receptor 5-HT_{1D} para estos receptores. Ambos podrían estar implicados en el control motor, alimentación, ansiedad y depresión, y el 5-HT_{5A} podría jugar un rol en el desarrollo cerebral (Matthes y cols, 1993).

Receptores de serotonina 5-HT₆

Estudios en cerebros de rata sugieren que este tipo de receptores se localizan exclusivamente en SNC, predominantemente en el corpus striatum y en algunas regiones límbicas y corticales. Su mecanismo de acción implica la activación de la adenil ciclasa (AC) (Monsma y cols, 1993). Diversos estudios han sugerido la posibilidad de que los receptores 5-HT₆ estén implicados en el origen de trastornos del comportamiento y en mecanismos moduladores de fármacos de afinidad

serotoninérgica, incluyendo antidepresivos y antipsicóticos (Bourson y cols, 1995; Sleight y cols, 1998).

Receptores de serotonina 5-HT₇

Dos grupos de receptores serotoninérgicos han sido denominados como receptores 5-HT₇ y, aunque no son idénticos, son bastante similares entre sí (Ruat y cols, 1993; Shen y cols, 1993). Uno de ellos está positivamente acoplado a AC y posee una homología transmembrana de algo menos del 55% con respecto a otros subtipos de receptores serotoninérgicos (Ruat y cols, 1993). El segundo receptor 5-HT₇ muestra una homología de alrededor del 50% (Shen y cols, 1993).

Estudios de unión de radioligandos y de expresión del mRNA del receptor 5-HT₇ sugieren que existe una alta densidad de estos receptores en el tálamo, hipotálamo e hipocampo, donde se especula que podrían sincronizar los ritmos circadianos con los ciclos de luz. Asimismo, también se ha especulado con la posibilidad de que estas proteínas estén implicadas en procesos de aprendizaje y en trastornos del humor, así como en procesos neuroendocrinos y vegetativos. También presenta una alta afinidad de unión a fármacos antidepresivos y antipsicóticos. Asimismo, y como algún otro tipo de receptor serotoninérgico, los receptores 5-HT₇ también parecen sensibles a cambios en la disponibilidad de glucocorticoides, un hecho que puede ser de gran importancia puesto que estos cambios han sido frecuentemente observados en situaciones de estrés y depresión (Yau y cols, 1997).

Tabla 11. Resumen de los receptores serotoninérgicos en mamíferos. Función y localización en sistema nervioso central

Receptor	Mecanismo de acción	Localización	Función asociada
Familia 5-HT₁			
5-HT _{1A}	Gi: inhibición de AC y apertura de canal de K ⁺ Go: cierre de canal de Ca ⁺⁺	Alta densidad en hipocampo, amígdala, neocórtex y núcleos del rafe (somatodendrítico)	Posible implicación en ansiedad y depresión
5-HT _{1B/1D}	Gi: inhibición de la AC	Ganglios basales, cortex e hipocampo	Posiblemente asociado a ansiedad, depresión y migraña
5-HT _{1E}	Gi: inhibición de la AC	Putamen caudado (↑densidad). Amígdala, globus pallidus, cortes frontal (↓ densidad)	Función poco conocida
Familia 5-HT_{2A}			
5-HT _{2A}	Gq: vía fosfoinositoles	En SNC, neuronas no serot del neocortex, claustrum, núcleo olfatorio y ganglio basal	Depresión, ansiedad, migraña, psicosis y esquizofrenia, trastornos del sueño
5-HT _{2B}	Gq: vía fosfoinositoles	Cortex	Migraña
5-HT _{2C}	Gq: vía fosfoinositoles	Plexo coroide, ↓ densidad en sust. Nigra, cortex y núcleo olfativo.	Hipolocomoción, hipofagia. Migraña, depresión
Familia 5-HT₃			
	Acoplado a canal iónico	Area postrema, cortex entorrinal, cortex fronal e hipocampo	Ansiedad
Familia 5-HT₄			
	Gs: activación de AC	Estriado, ganglio basal, núcleo accumbens, sust nigra	Procesos de memoria, emociones y estado de ánimo
Familia 5-HT₅			
	No conocido	Cortex, hipocampo, habénula, bulbo olfatorio y cerebelo	Control motor y alimentación. Desarrollo cerebral (?) Depresión y ansiedad
Familia 5-HT₆			
	Gs: activación de AC	Cuerpo estriado, algunas regiones límbicas y corticales	T. neuropsiquiátricos, mec de acción de drogas
Familia 5-HT₇			
	Gs: activación de AC	Talamo, hipocampo e hipotálamo	Humor y aprendizaje Sensibles a la disponibilidad de GC

1.2. Hipótesis de la disfunción serotoninérgica en depresión: un contexto para la presente tesis

Tal y como ha sido apuntado anteriormente, una de las hipótesis fisiopatológicas clásicas del origen de los trastornos afectivos, y también una de las primeras en relacionar una posible neurotransmisión alterada en el origen de la enfermedad mental, fue la hipótesis indolaminérgica (Bunney and Davis, 1965; Schildkraut, 1965; Coppen, 1967; Lapin and Oxenkrug, 1969; Murphy y cols, 1978).

Esta hipótesis, postula que el déficit o disfunción cerebral de la serotonina sería la causa de la depresión. Esta teoría surgió en los años 50 de manera casual cuando se comprobó que determinadas drogas, que por su mecanismo de acción implicaban un incremento de los niveles de serotonina en el espacio intersináptico, eran capaces de hacer remitir los síntomas clínicos de la depresión (Axelrod y cols, 1959; Delgado y cols, 1992; Syvalahti, 1994).

A lo largo de las últimas décadas, otras muchas evidencias han ratificado la alteración de la vía de neurotransmisión serotoninérgica en la depresión.

Así, en estudios realizados en pacientes depresivos suicidas se encontró una reducción de la concentración de serotonina (5HT) y de su principal metabolito, el 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) en tejido cerebral; asimismo ha sido descrita disminución de la concentración de 5-HIAA en el líquido cefalorraquídeo (LCR) (Goodwin and Post, 1975; Stanley and Mann, 1983; Asberg y cols, 1984; Mann y cols, 1986; Arango y cols, 1990; van Praag, 1992), y una disminución de la concentración plasmática de triptófano (aminoácido precursor de la serotonina) (Coppen y cols, 1973; Coppen and Wood, 1978; Shaw y cols, 1978; Thompson y cols, 1982; Maes, 1995; Curzon, 1996; Maes y cols, 1997) en muestras de pacientes afectados por depresión.

En los últimos años, otro tipo de estudios basados en las técnicas de radioligandos serotoninérgicos han demostrado un aumento de la densidad de receptores 5-HT₂ plaquetarios en pacientes deprimidos y en individuos suicidas (Biegon y cols, 1987; Arora and Meltzer, 1989); otros hallazgos, utilizando estas mismas técnicas, describen una disminución del número de moléculas de recaptación de serotonina en pacientes depresivos y en individuos suicidas no sometidos a ningún tratamiento farmacológico previo (Owens and Nemeroff, 1994). Desde estos mismos estudios, y utilizando fármacos antidepresivos afines a los receptores serotoninérgicos, se ha podido demostrar igualmente una disminución de la unión de imipramina/paroxetina tritiada en plaquetas, corteza frontal o hipocampo de estos pacientes comparados con población control (Briley y cols, 1980; Flugge, 1995). Estudios animales también parecen confirmar estos hallazgos (Dickinson and Curzon, 1986; Bagdy y cols, 1989; Mendelson and McEwen, 1992)

Otras alteraciones biológicas descritas en depresión han sido: i) la disminución de la respuesta hipotérmica a la ipsapirona (Cowen y cols, 1990; Lesch y cols, 1990), ii) disminución de la respuesta de prolactina a triptófano intravenoso y fenfluramina oral (Winokur y cols, 1986; Coccaro y cols, 1989; Cohen and De Vane, 1996), iii) la recaída depresiva tras depleción de triptófano en pacientes bajo tratamiento (Shopsin y cols, 1975; Shopsin y cols, 1976; Kaye y cols, 1988).

Estudios más recientes basados en nuevas técnicas de neuroimagen cerebral, han identificado un descenso en el número de receptores post-sinápticos 5-HT_{1A} (Sargent y cols, 2000) y 5-HT_{2A} (Yatham y cols, 2000) en pacientes con trastorno depresivo. Asimismo, estudios con SPECT cerebral, mostraron un aumento de la densidad de receptores 5-HT_{2A} en corteza frontal (D'Haenen y cols, 1992). Adicionalmente se ha descrito una disminución en la disponibilidad de la recaptación

de serotonina en regiones del cerebro medio de estos pacientes (Malison y cols, 1998; Willeit y cols, 2000; Bhagwagar y cols, 2002) para revisión).

En la Tabla 12 se recogen, de manera resumida, los principales hallazgos de alteraciones biológicas en el sistema monoaminérgico de pacientes deprimidos.

Tabla 12. Resumen de las alteraciones monoaminérgicas más importantes descritas en pacientes con trastorno depresivo mayor.

-
- Disminución del triptófano plasmático
 - Disminución del 5-hidroxi-indolacético en líquido cefaloraquídeo
 - Disminución de la recaptación de la serotonina plaquetaria
 - Disminución del binding de imipraminas paroxetina tritriada en plaquetas, corteza frontal e hipocampo.
 - Aumento del binding de receptores 5-HT₂ en plaqueta y corteza cerebral de suicidas.
 - Disminución de la respuesta de proláctica a triptofano intravenoso i fenfluramina oral,
 - Disminución de la respuesta hipotérmica a ipsapirona
 - Recaída depresiva tras depleción de triptófano en pacientes depresivos bajo tratamiento.
-

Como hemos visto, un alto número de estudios sugieren la existencia de una disfunción serotoninérgica en individuos deprimidos. Sin embargo, y tal y como hemos comentado anteriormente, un modelo tan simple parece insuficiente para explicar, por sí sólo, las causas de la enfermedad.

El mayor problema de esta hipótesis es su alta inespecificidad; las alteraciones relacionadas con las vías de neurotransmisión serotoninérgicas no se producen únicamente en pacientes diagnosticados de depresión mayor, sino que también aparecen en otros tipos de trastornos como el trastorno obsesivo-compulsivo (Charney y cols, 1988; Hollander y cols, 1989), trastorno de pánico (Nemeth y cols, 1989; Targum and Marshall, 1989), trastornos del apetito (Kaye y cols, 1988; Marazziti y cols, 1988; Jimerson y cols, 1989), alcoholismo (Borg y cols, 1985), síndrome premenstrual (Poeldinger, 1984), parkinson y demencia (Argentiero

and Tavolato, 1980; D'Amato y cols, 1987; Mayeux y cols, 1988) o esquizofrenia (Kaplan and Mann, 1982; Wood y cols, 1983; Le Quan-Bui y cols, 1984).

Parece simplista, por tanto, explicar cómo la hipo o hiperfunción de un sólo sistema de neurotransmisión puede ser responsable de tan diversas condiciones, sobre todo, si tenemos en cuenta que el sistema serotoninérgico está ligado anatómica y funcionalmente a otros sistemas de neurotransmisión cerebral.

Sin embargo, y a pesar de las limitaciones que impone todavía el desconocimiento de muchos mecanismos de regulación y función de este sistema de neurotransmisión, y de sus receptores, no hemos de olvidar que la serotonina ya fue propuesta como elemento esencial para la salud mental por Woolley en 1961 (Wolley, 1961). Este autor ya consideró este neurotransmisor como un elemento claro en la homeostasis del tejido neural (SNC) por su plasticidad de respuesta a una amplia gama de factores neuronales.

En consecuencia, podría postularse que ciertos elementos de respuesta al ambiente/estrés mediados por el sistema serotoninérgico estuvieran, en parte, genéticamente determinados. Este sustrato o *background* serotoninérgico podría ser compartido, también, por diferentes trastornos del espectro ansioso y depresivo; de hecho, ya existen evidencias a partir de estudios familiares, y recientemente de estudios moleculares, que ponen de manifiesto que los trastornos afectivos y los trastornos de ansiedad compartirían un sustrato genético común (Kessler y cols, 1994; Collier y cols, 1996; Lesch y cols, 1996; Gutierrez y cols, 1998).

1.3. Sistema serotoninérgico, variación genética y depresión

Como veremos en el siguiente capítulo, los estudios de familia, gemelos y adopción apoyan la existencia de factores genéticos como responsables de una proporción importante de la variación de fenotipos tan complejos como la depresión mayor. La identificación de estos factores ha constituido el reto de la genética psiquiátrica de los últimos años. La alta prevalencia de los trastornos depresivos debe hacernos sospechar que los factores genéticos de vulnerabilidad involucrados en este complejo fenotipo no deberían ser mutaciones excepcionales o raras, sino variantes relativamente frecuentes en las poblaciones humanas.

Se estima que el genoma humano nuclear está formado por unos 3 mil millones de pares de bases de ADN (nucleótidos) y contiene de 30.000 a 40.000 secuencias que codifican para proteínas. El origen reciente de *Homo sapiens sapiens* en África hace unos 100.000 de años, podría explicar las similitudes genéticas que presentan los individuos de nuestra especie. Desde la genética de poblaciones se ha estimado que este parecido genético se situaría alrededor de un 99.9%, es decir, dos individuos seleccionados al azar únicamente diferirían en un 0.1% de sus nucleótidos (Sachidanandam y cols, 2001).

Si nosotros hipotetizamos que determinadas variantes genéticas constituyen factores de riesgo para la depresión mayor, podemos especular que el riesgo diferencial entre dos individuos para sufrir este trastorno debería explicarse, al menos en una parte, por ese 0.1% diferencial anteriormente descrito.

Una posible estrategia para identificar variantes genéticas de riesgo sería concentrarse en la búsqueda de SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) que se encuentran distribuidos a lo largo de todo el genoma.

Los SNPs son pares de bases (pb) localizados en el ADN para los cuales existen dos secuencias alternativas diferentes (alelos) (Brookes, 1999). Estas variaciones puntuales se encuentran aproximadamente cada 1000 pb y constituyen la variación de secuencia más frecuente en el ADN del genoma humano. En la actualidad, y gracias al Proyecto Genoma Humano, han sido identificados más de 1.400.000 SNPs distribuidos al azar; la mayoría de ellos ya han sido mapados, aunque, hipotéticamente, se calcula que existirían alrededor de tres millones de SNPs, de los cuales, unos 50.000 se estima que serían de tipo estructural, es decir el tener una u otra variante alélica en la secuencia implicaría un cambio en al aminoácido correspondiente de la secuencia proteica.

Según la información de la que disponemos hoy en día, el 39% de nuestros genes contendrían diez o más SNPs, el 59% de los genes cinco o más y el 93% presentaría como mínimo un SNP (Ribas, 2001).

Como se ha mencionado previamente, se hipotetiza que el riesgo para los trastornos mentales como la depresión, esté influido por patrones de SNPs que se localizarían en ciertos genes claves o candidatos por su función en el SNC.

La base para seleccionar unos determinados SNPs en detrimento de otros y utilizarlos en estudios de asociación debería basarse en una definición biológica previa de genes candidatos. Estos genes son propuestos, bien por su propia función desde estudios de expresión cerebral diferencial en pacientes, o desde estudios previos de ligamiento genético que hayan descrito algún *locus* de interés próximo al cual se encuentran dichos genes. Utilizar SNPs que puedan presentar alguna implicación funcional, como los cSNPs no-sinónimos o variantes en zonas promotoras, sería *a priori* una elección adecuada para realizar este tipo de estudios. Siguiendo esta estrategia, una manera de aumentar la eficacia los estudios de

asociación con SNPs, es realizar un pre-selección de aquellos que pudieran tener un efecto patogénico. Un resultado significativo en un estudio de asociación utilizando SNPs puede tener diferentes interpretaciones dependiendo del tipo de polimorfismo escogido. Una posibilidad es que el SNP analizado sea una mutación asociada directamente a la enfermedad, lo que afectará directamente al riesgo. Otra opción, puede ser que el SNP se encuentre en desequilibrio de ligamiento con la mutación que realmente está asociada a la enfermedad, es decir, el resultado positivo que se obtiene se debería a que el SNP y la mutación son co-heredadas en la población y raramente separadas por recombinación.

No hay que olvidar, por otro lado, que el *screening* del genoma analizando SNPs o grupos de SNPs (haplotipos), puede constituir, también, una buena estrategia para localizar genes de efecto moderado o mayor asumiendo la existencia de desequilibrios de ligamiento entre la hipotética mutación y los SNPs analizados. En este sentido, recientes avances en el conocimiento del genoma humano han revelado la existencia de "bloques haplotípicos" en los que se detecta un alto desequilibrio de ligamiento (Daly y cols, 2001; Goldstein, 2001). Estas regiones, que llegan a extenderse hasta 100kb, se encuentran separadas por hotspots de recombinación donde el desequilibrio de ligamiento prácticamente desaparece. Según estos datos, y en contra de lo que se pensaba hasta hace poco, nos encontraríamos ante un genoma que transmitiría su información en forma de "paquetes". La determinación de qué SNP's son informativos (es decir, cuales son estrictamente necesarios para definir un bloque haplotípico), permitiría hacer un salto cualitativo importante en el estudio de enfermedades complejas debido a que analizando un número relativamente bajo de SNP's se cubrirían regiones importantes del genoma (Johnson y cols, 2001). En última instancia, este tipo de

análisis permitiría aumentar el poder estadístico para detectar genes o variantes polimórficas de un efecto menor, aunque, hoy en día, no parece claro que esta aproximación sea aplicable a cualquier área del genoma.

Estos nuevos abordajes en el estudio de la SNPs de interés, así como en el *screening* masivo de genes, requieren de nuevas tecnologías tales como los *microrarrays*, espectrometría de masas (MALDI-TOF), PCR cuantitativa o SNaPshot, que actualmente ya pueden llevarse a cabo; sin embargo es necesario desarrollar nuevas estrategias estadísticas y probablemente modelos biológicos y genéticos de enfermedad como hipótesis de partida, para procesar y comprender de manera eficaz la cantidad masiva de datos que se producen como consecuencia de este tipo de estudios (Thomson and Esposito, 1999; Aitman, 2001; Bunney y cols, 2003).

Sin embargo, aun parece difícil asumir, *a priori*, que un único cambio en una base nucleotídica pueda constituir, por sí misma, un factor de riesgo para un determinado trastorno. En los años 90, el grupo de Lefkowitz (Kjelsberg y cols, 1992) puso de manifiesto que una única mutación puntual (cambio de un solo nucleótido a nivel de ADN) en el gen codificador del receptor α_{1B} adrenérgico ligado funcionalmente a proteínas G (de conformación análoga a la de los receptores serotoninérgicos) podía dar lugar a receptores constitutivamente activos, es decir, receptores que no precisarían de ligando para su activación. Por tanto, podemos suponer que un único cambio en una base nucleotídica podría implicar cambios en la proteína y en la función de la misma (p.ej, cambios en la afinidad de un receptor por su neurotransmisor o su fármaco antagonista), así como cambios en las zonas reguladoras de la expresión génica podrían traducirse en la producción de un mayor o menor número de receptores.

Si bien es cierto que los factores genéticos deben tenerse en cuenta por el papel que parecen jugar en el riesgo para padecer un trastorno mental, no debemos olvidar que para entender el origen de la enfermedad mental será siempre necesario considerar y valorar el factor ambiente, entendido en su sentido más amplio, biológico prenatal, biológico postnatal, cultural y psicológico; además este ambiente debe comprenderse en continua interacción con el genotipo del individuo.

En este sentido, la comprensión de cualquier característica compleja del ser humano será imposible sin considerar simultáneamente el efecto de genes y ambiente.

Durante mucho tiempo ha sido difícil verificar desde la epidemiología genética la existencia de esta interacción en la enfermedad mental. Sin embargo, recientemente un estudio ha conseguido detectar esta interacción genética-ambiental en el origen de la depresión (Caspi y cols, 2003). El estudio pone de manifiesto que ser portador del alelo corto (S) del polimorfismo 5-HTTLPR localizado en la zona promotora del gen del transportador de serotonina y haber sufrido determinadas situaciones estresantes a lo largo de la vida, y especialmente en la niñez, incrementa el riesgo para sufrir depresión mayor en la juventud y edad adulta. Diversos autores ya habían sugerido que las situaciones estresantes que implican sentimiento de derrota, de pérdida, de humillación o de frustración influyen en la edad de inicio de la depresión (Kessler, 1997; Brown, 1998; Kendler y cols, 1999; Pine y cols, 2002).

Sin embargo, no todas las personas que sufren *life events* estresantes acaban manifestando una depresión, y este hecho podría estar relacionado, de alguna manera, con un sustrato genético de vulnerabilidad. En este sentido, la genética del comportamiento apoya esta hipótesis, ya que se ha documentado que

el riesgo de sufrir una depresión después de un suceso estresante es más elevado entre los individuos que se encuentran en un grupo alto riesgo genético familiar que entre los que no presentan este riesgo genético incrementado (Kendler y cols, 1995). Desafortunadamente, no existen evidencias concluyentes de la posible asociación entre el gen del transportador de serotonina y la depresión (Lesch y cols, 2002). Algunos autores defienden la hipótesis de que, quizás, este gen no esté directamente implicado en el origen de la depresión sino modulando la respuesta serotoninérgica al estrés. Diferentes modelos animales (en ratones y en mono *rhesus*), así como estudios de neuroimagen en cerebros humanos, así parecen indicarlo (Murphy y cols, 2001; Bennett y cols, 2002; Hariri y cols, 2002).

El estudio de Caspi y colaboradores (2003) anteriormente mencionado, se realizó sobre una cohorte de 1037 individuos, seguidos desde los 3 años hasta los 26, y pone de manifiesto que los individuos portadores del alelo corto del polimorfismo 5-HTTLPR del gen del transportador de serotonina que han sufrido acontecimiento vitales estresantes en su infancia y juventud, presentan más síntomas depresivos, episodios depresivos y comportamiento suicida. Según los autores esta interacción podría ser el reflejo de una interacción gen - "gen" entre el polimorfismo 5-HTTLPR y otros genes que no han sido estudiados pero que podrían estar modulando la exposición al ambiente. Este descubrimiento, dicen los autores, podría ayudar a mejorar la investigación que se realiza en la actualidad en psiquiatría genética. La penetrancia incompleta, una de las mayores fuentes de error en los estudios de ligamiento, podría explicarse si se considerara que los efectos genéticos únicamente serían visibles en aquellos individuos del *pedigree* expuestos a factores de riesgo ambiental. Los autores especulan con la idea de que, quizás, los trastornos multifactoriales no serían el resultado de la variabilidad de muchos genes

de efecto menor, sino que podrían estar causados por la variabilidad de pocos genes cuyos efectos estarían condicionados a la exposición a determinados riesgos ambientales.

En definitiva, la depresión es, sin duda, un complejo fenotipo, probablemente heterogéneo en su biología y en su etiología. Los estudios genéticos han contribuido a esclarecer algunos aspectos de esa heterogeneidad, pero todavía nos encontramos lejos de poder establecer las bases moleculares de la misma, si bien es cierto que cierto grado de variabilidad genética en genes del sistema serotoninérgico parece contribuir al riesgo para la enfermedad y para ciertos aspectos clínicos de la misma, como se ha pretendido demostrar en los diferentes abordajes llevados a cabo en la presente Tesis y que se presentarán en los capítulos de Resultados.

1.4. Genes candidatos analizados en la presente Tesis

Un gen candidato será aquel que codifique para una proteína cuya función pueda relacionarse directa o indirectamente con la fisiología del trastorno. En nuestro caso y según todo lo visto anteriormente, cualquiera de los genes de los receptores serotoninérgicos, así como los genes de enzimas implicados en la síntesis y degradación de serotonina o en su recaptación, se perfilan como candidatos para el trastorno depresivo mayor. En la Figura 13 podemos observar una neurotransmisión serotoninérgica con algunas de las proteínas implicadas.

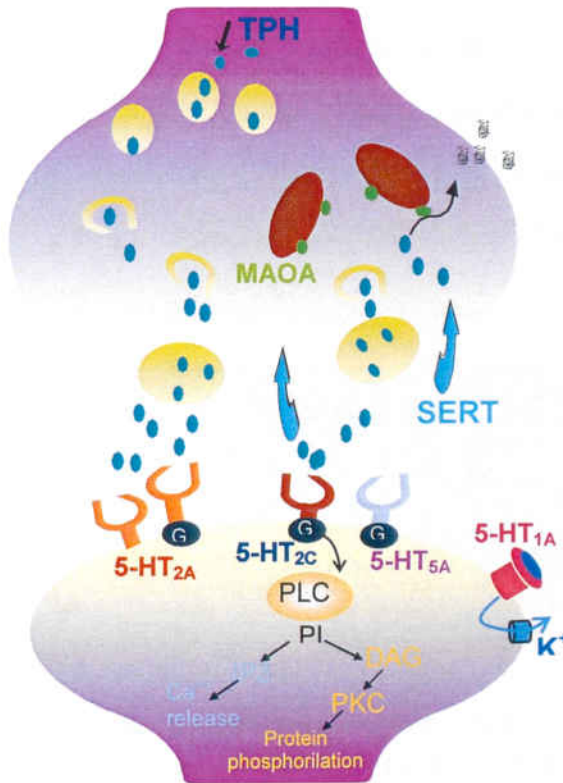


Figura 13. Representación esquemática de una neurona serotoninérgica. En la figura se indican algunos de los receptores y enzimas cuyos genes podrían ser considerados como genes candidatos para la depresión mayor.

A continuación se presentan, de manera detallada la estructura de los cuatro genes analizados en la presente tesis: el gen HTR1A, el gen HTR2A, el gen HTR5A y el SLC6A4.

Gen del receptor de serotonina 5-HT_{1A} (HTR1A)

El gen del receptor de serotonina 5-HT_{1A} se localiza en el cromosoma 5cen-5q11 (Kobilka y cols, 1987). Está constituido por un único exón que codifica para una proteína de 422 amino ácidos. De todos los SNPs descritos para este gen (Figura 14), en la presente tesis se analizaron cuatro, un SNP localizado en la zona promotora (C-1018G) (Wu and Comings, 1999) y tres SNPs estructurales (Ile28Val, Asp272Gly y Pro16Leu) (Erdmann y cols, 1995; Kawanishi y cols, 1998). Las características específicas para los análisis moleculares utilizados en su detección se encuentran recogidas en la Tabla 23 de la sección de Material y Métodos.

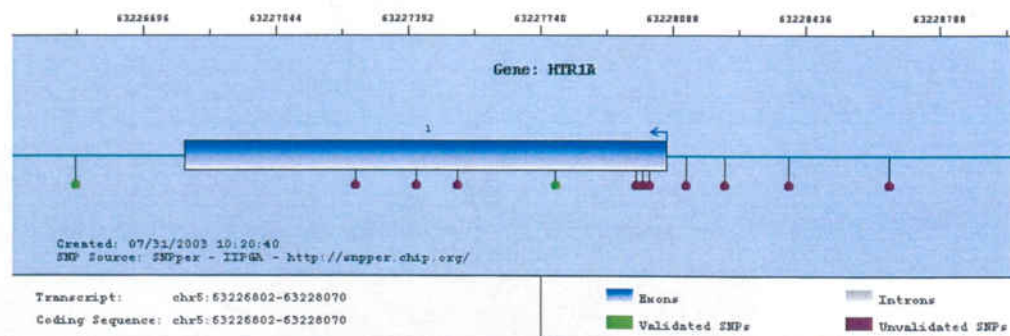


Figura 14. Estructura del gen HTR1A y localización de todos los SNPs descritos hasta el momento. En color verde se muestran los SNPs que han sido validados, mientras que lo que están en color marrón son polimorfismos que aún no están validados como tales.

Gen del receptor de serotonina 5-HT_{2A} (HTR2A)

El gen para este receptor está localizado en el cromosoma 13q14-21 (Sparkes y cols, 1991). Esta constituido por tres exones y dos intrones, de un tamaño total aproximado de 20 kilobases que codifican para una proteína de 471 aminoácidos (Chen y cols, 1992).

Cómo se puede observar en la Figura 15, han sido detectados un gran número de SNPs en este gen, aunque la mayoría de ellos están todavía pendientes de validación. En la presente tesis se analizó el polimorfismo 102T/C (Warren y cols, 1993), que se encuentra localizado en el exón 1 del gen y que consiste en un cambio silencioso de un timina a una citosina que no provoca cambio de aminoácido. Se ha visto que se encuentra en total desequilibrio de ligamiento con el polimorfismo -1438G/A de la zona promotora (Spurlock y cols, 1998). Las características del análisis se encuentran recogidas en la Tabla 23 (ver apartado de Muestra y Método)

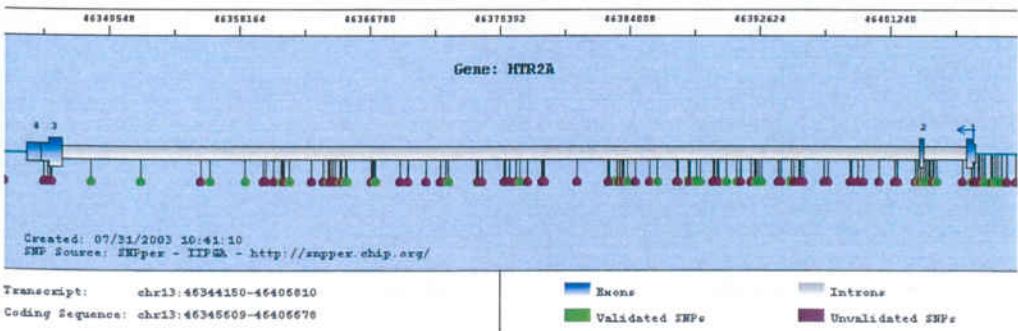


Figura 15. Estructura del gen HTR2A, en azul se encuentran representados los tres exones, y en gris los intrones, dónde, como se puede ver, se localizan la mayoría de los casi 150 SNPs caracterizados en este gen. Muchos de ellos todavía necesitan ser validados.

Gen del receptor de serotonina 5-HT_{5A} (HTR5A)

El gen HTR5A está localizado en el cromosoma 7q36.1. Está constituido por dos exones y un intrón, que codifican para una proteína de 357 aminoácidos (Rees y cols, 1994; Schanen y cols, 1996).

En la Figura 16, se muestra la estructura del gen del receptor 5-HT_{5A}, así como los polimorfismos descritos hasta el momento. En el presente trabajo se analizaron dos polimorfismos, el -19G/C (Shimron-Abarbanell y cols, 1997), localizado en la zona no codificante 5' que consiste en un cambio nucleotídico de una guanina por una citosina que no parece afectar a la expresión del gen y el polimorfismo -12A/T (Shimron-Abarbanell y cols, 1997), localizado en el exón 1. también consistente en un cambio nucleotídico silencioso de una adenina por una timina que no provoca cambio de aminoácido en la proteína resultante. Las características específicas del análisis genético para cada uno de ellos se encuentran recogidas en la Tabla 23 (Muestra y Método)

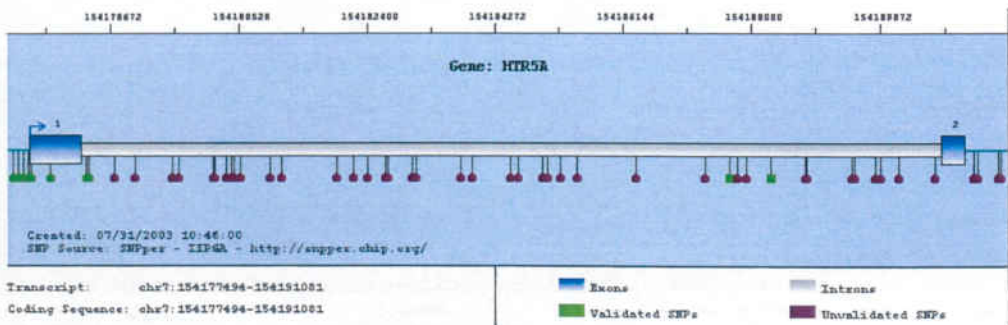


Figura 16. Estructura del gen HTR5A, en azul se encuentran representados los dos exones, y en gris el intrón. A lo largo del gen encontramos distribuidos los aproximadamente 125 SNPs que han sido descritos hasta el momento para este gen.

Gen del transportador de serotonina (SLC6A4)

El gen del transportador de serotonina ha sido localizado en el cromosoma 17q11.2 (Ramamoorthy y cols, 1993). Esta constituido por 14 exones que se expanden a lo largo de unas 31Kb codificando para una proteína de 630 aminoácidos (Lesch y cols, 1994; Gelernter y cols, 1995).

De los polimorfismos descritos en este gen, en la presente tesis se ha analizado una inserción/delección (5-HHTLPR) localizada en la zona promotora (ver Tabla 23 para más características) cuya variante corta (S) o 484 implica una menor expresión del gen, lo cual se traduce en una menor síntesis de proteína transportadora (Lesch y cols, 1996; Heils y cols, 1997)

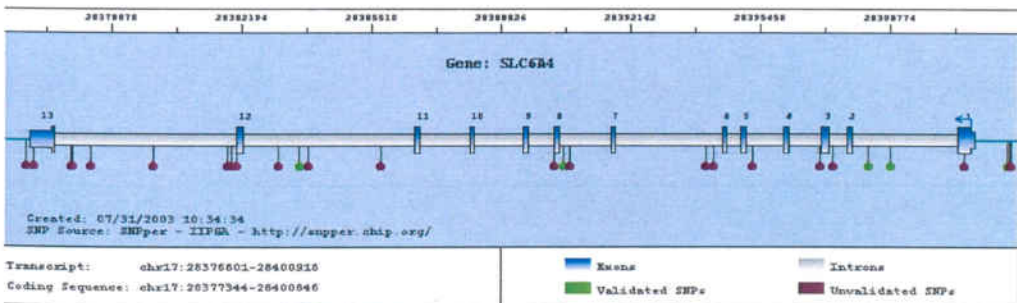


Figura 17. Representación esquemática del gen SLC6A4 y localización de los SNPs descritos hasta el momento.

III. ETIOPATOGENIA Y DEPRESIÓN- I:

Factores genéticos de interés en la depresión

Genética de la Depresión.

L. Fañanás, B. Arias

*En: Depresión Estado Actual. Ed. F. Pallardó, Fundación Valenciana de Estudios
Avanzados. Dep. Legal J-75-2002. pp-63-104 (2002)*

*Genética
de la Depresión*

M^a Lourdes Fañanás Saura

Profesora Titular de Biología Humana
Facultad de Biología
Universidad de Barcelona

Bárbara Arias

Becaria de Investigación
Licenciada en Ciencias Biológicas por la
Universidad de Barcelona

Genética de la Depresión

“Human molecular genetics has sparked a revolution in medical science on the basis of the improbable notion that one can systematically discover the genes causing inherited diseases without any prior biological clue as to how they function” (Lander & Schork, 1994)

INTRODUCCIÓN

Muchos niños crecen con padres que en determinados momentos, o de forma persistente, sufren algún tipo de depresión. Una proporción importante de estos niños presentarán problemas psíquicos (a menudo depresión) alguna vez en sus vidas (Radke-Yarrow y cols., 1992). Los datos aportados desde algunos estudios de cohorte como el anterior, deben integrarse también en la comprensión biológica de la depresión; recordemos que nuestros padres no sólo configuran el contexto inmediato de aprendizaje vital para relacionarnos con nosotros mismos y con los demás, sino que también nos definen en gran medida biológicamente ya que de cada uno de ellos recibimos la mitad de nuestros genes.

La naturaleza de la transmisión de la patología mental de padres a hijos ha sido objeto de estudio de la psiquiatría desde sus orígenes pero sólo en las últimas décadas especialistas de otras disciplinas se han unido a esta tarea investigadora.

Actualmente está generalmente aceptado que, como para tantas otras características complejas del ser humano, factores genéticos y ambientales están implicados en el origen de la depresión.

Dado que la depresión aparece con prevalencias elevadas entre los miembros de algunas familias y lo hace además a lo largo de generaciones, se asume que los hijos de padres afectados por formas graves de depresión son individuos de alto riesgo para estos trastornos. Sin embargo, y a pesar de las investigaciones desarrolladas, se desconoce de qué manera estos factores, independiente o conjuntamente, influyen en la transmisión de la depresión de padres a hijos y qué mecanismos biológicos sustentan dicha vulnerabilidad.

Los espectaculares avances observados en biología molecular durante las últimas décadas han abierto nuevos y prometedores caminos en la investigación del origen de la enfermedad. De manera específica, los

Depresión: Estado actual

avances en genética molecular han sido recibidos con una enorme esperanza en el campo de la psiquiatría. Sin embargo, la identificación de genes involucrados en el origen de las enfermedades mentales, incluidas las distintas formas de depresión, está resultando mucho más difícil de lo que en un primer momento se sospechó.

• El presente capítulo centrará su atención en dos diagnósticos, el trastorno bipolar y el trastorno unipolar. En el primer caso, y aún existiendo autores que lo discuten, asumimos que estamos ante una “forma” de depresión nosológica y biológicamente delimitada. Sin embargo el diagnóstico de depresión unipolar o la depresión mayor, entendida según criterios DSM IV, encierra más de un trastorno; ésta heterogeneidad, discutida clásicamente, establece al menos dos posibles subgrupos, donde las formas melancólicas y recurrentes de depresión parecen destacar como un subgrupo etiológico más endógeno. Esto no significa que en las formas más “reactivas” o “no endógenas” de depresión unipolar no debamos enfrentarnos a factores biológicos y genéticos de riesgo; estos factores que probablemente son distintos a los involucrados en las primeras categorías, y quizá estén relacionados con la capacidad biológica del individuo ante el estrés ambiental. Por tanto, en ambas aproximaciones etiopatogénicas serán interesantes las aportaciones de la genética.

El trastorno bipolar (\approx *life time risk* 0.8%) y la depresión unipolar (\approx *life time risk* 5%) han sido, dentro del amplio espectro de los trastornos afectivos, los dos diagnósticos más investigados en el campo de la genética, especialmente el trastorno bipolar.

Como veremos en este capítulo, diversas posiciones del genoma han sido propuestas como candidatas para la localización de genes involucrados en el origen de estos trastornos, especialmente para el trastorno bipolar. Sin embargo hasta el momento no ha sido identificado ningún gen de efecto mayor relacionado con la depresión.

Muchos factores están detrás de los reiterados fracasos de los estudios genéticos en el trastorno bipolar y en la depresión unipolar. Entre estas limitaciones está la definición de los fenotipos que, dada la ausencia de marcadores biológicos específicos, se basa exclusivamente en criterios clínicos. Por otro lado está la propia complejidad de los mecanismos genéticos implicados, que quizá se relacionan muy indirectamente con la génesis de los síntomas.

Genética de la Depresión

La realización de los primeros estudios de ligamiento durante los años 80 se basaron en gran medida en el argumento de que un solo gen pudiera explicar la enfermedad. Este punto de vista, sustentado durante años sobre el hecho de que el trastorno bipolar presentaba una importante *heredabilidad*, está empezando a ser cuestionado desde la epidemiología genética que ha visto cómo, en un trastorno tan altamente heredable y genéticamente complejo como la diabetes, habría más de veinte genes implicados. Estos genes tendrían un efecto menor, muchos de ellos con una plasticidad de expresión respecto al ambiente y estarían presentes normalmente en las poblaciones humanas, no tratándose, por tanto, de mutaciones excepcionales.

Si lo que se intenta encontrar son genes de efecto menor, el camino que se ha seguido en los primeros estudios de ligamiento no es el más adecuado para detectar este tipo de genes, debido a que se trata de un método que carece del suficiente poder estadístico para detectar dicho efecto (Risch & Merikangas, 1996).

Una nueva perspectiva se abrió en la genética psiquiátrica con la incorporación de los estudios de asociación utilizando genes candidatos que se han ido conociendo en los últimos años.

Gracias al proyecto Genoma Humano se han conocido y descrito numerosos genes de interés en psiquiatría. Muchos de ellos son genes involucrados en la codificación de receptores neuronales, o de enzimas que participan en la síntesis o degradación de neurotransmisores. El proyecto Genoma Humano ha abierto un camino muy importante, pero está deparando también algunas sorpresas y nuevos retos. En base a las estimaciones que están realizando los bioinformáticos con la información disponible en la actualidad, el número final de genes en nuestra especie parece ser muy inferior al propuesto a la luz de los primeros datos. Esto significa que la comprensión, tanto de la variabilidad normal como de la patológica en el hombre, tendrá que hacerse a la luz de los complejos mecanismos de regulación y expresión génica, o a nivel de las proteínas y de sus polivalencias funcionales y/o sus interacciones, todos ellos aspectos que en la actualidad desconocemos en una gran medida.

Asimismo, el ambiente, entendido en su sentido más amplio (biológico prenatal, biológico postnatal, cultural y psicológico), deberá ser valorado en el futuro como un factor en continua interacción con el genotipo del individuo.

Depresión: Estado actual

LAS PRIMERAS EVIDENCIAS: ESTUDIOS FAMILIARES, DE ADOPCIÓN Y DE GEMELOS

La primera y más sencilla aproximación a los factores hereditarios implicados en un trastorno nace de la observación de la familia y del estudio de la prevalencia del trastorno entre sus miembros. Este tipo de estudios permiten calcular el riesgo mórbido familiar (*familial morbid risk*) para el diagnóstico de interés y compararlo con el observado en individuos de la población general; un trastorno hereditario presentará, en hipótesis, una mayor prevalencia entre los familiares de los afectados.

Sin embargo, y debido a que aspectos importantes de nuestro comportamiento y de la psicopatología pueden estar relacionados con aprendizajes adquiridos en el entorno familiar, y por tanto igualmente heredables, es imprescindible también abordar el estudio genético de estos trastornos desde los estudios de adopción y de gemelos, donde al menos y en cierta medida, es posible controlar el factor ambiental y diferenciarlo del genético.

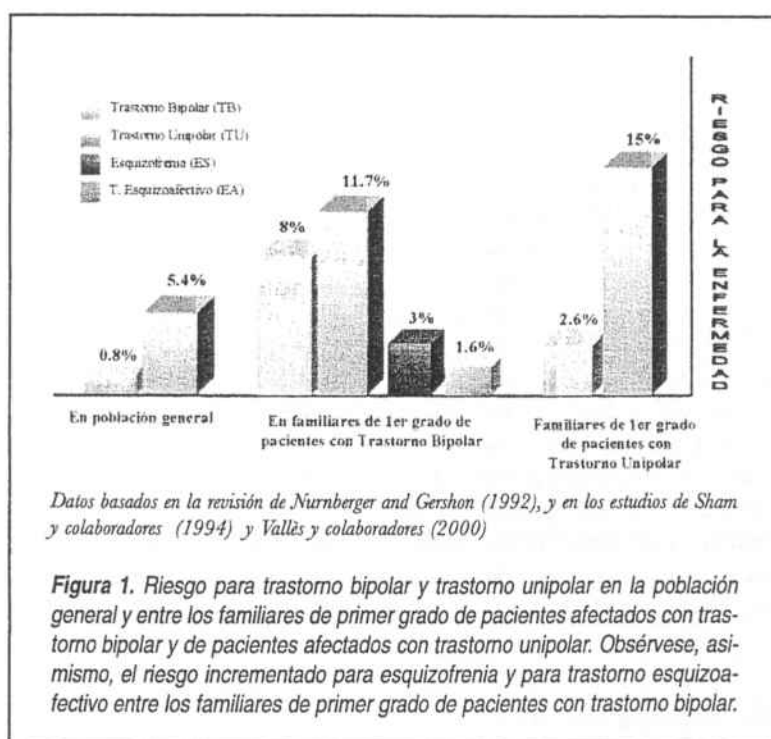
En 1922 Kraepelin ya observó que aproximadamente un 80% de sus casos con depresión maníaca tenían una predisposición familiar a la enfermedad.

Los primeros estudios familiares sistematizados, que se llevaron a cabo entre 1929 y 1954, pusieron claramente de manifiesto que los trastornos afectivos graves eran más frecuentes en familiares de enfermos con manía que en población general (Tsuang y Faraone, 1990).

En 1966, Angst y Perris, de manera independiente, diferenciaron por primera vez el trastorno bipolar del trastorno unipolar en los estudios de familia. Estos trabajos constataron un aumento de trastorno bipolar, pero también de trastorno unipolar, entre los familiares de primer grado de pacientes afectados por depresión bipolar. Estudios posteriores han corroborado estos hallazgos. De manera muy sintética, en la Figura 1 se recogen algunos de estos riesgos en familiares. Como podemos ver, los familiares de primer grado de pacientes bipolares tendrían un riesgo o una probabilidad del 8% de desarrollar la enfermedad (aproximadamente 10 veces más riesgo que la población general). Análogamente, el riesgo para trastorno unipolar sería del 11.7%, el doble del descrito en población general. Por otro lado, el riesgo de trastorno unipolar es también

Genética de la Depresión

superior, aproximadamente de un 15%, entre familiares de pacientes con este diagnóstico; asimismo, algunos estudios (Gershon y cols., 1982; Taylor y cols., 1980 Weissman y cols., 1984; Rice y cols., 1987) también encuentran un ligero incremento de trastorno bipolar entre familiares de pacientes con depresión unipolar (Figura 1).



Por otra parte, diversos estudios describen un incremento del riesgo de esquizofrenia y trastorno esquizoafectivo entre los familiares de primer grado de individuos afectados por trastorno bipolar (Figura 1). Un estudio reciente de Vallès y cols. (2000) ha replicado en población española los mismos hallazgos de Sham y cols. (1994) obtenidos en el marco del Camberwell Collaborative Psychosis Study desarrollado en población británica. Ambos estudios, llevados a cabo con metodologías equiparables, han encontrado un riesgo incrementado de esquizofrenia (≈ 3) entre los familiares de los pacientes bipolares investigados (Figura 1). Por otro lado, entre los familiares de pacientes esquizofrénicos ha sido

Depresión: Estado actual

descrito un exceso de individuos afectados por trastorno bipolar (2.1 %, según Sham y cols., 1994) y por trastorno unipolar (un 11% según Maier y cols., 1993).

Estos hallazgos sugieren la existencia de un cierto solapamiento genético entre esquizofrenia y trastornos afectivos. Algunos de estos estudios estarían de acuerdo con la existencia de un «continuum» en términos genéticos entre las psicosis, hipótesis defendida por Crow (1994).

ESTUDIOS DE ADOPCIÓN

En los estudios de adopción se estima el riesgo para la enfermedad entre los individuos de alto riesgo para el trastorno, es decir, hijos de padres biológicos afectados, que has sido criados en familias adoptivas sanas; estas tasas se comparan con las observadas entre los hijos de personas afectadas criados dentro de su familia natural. Sólo los riesgos para la enfermedad observados en la edad adulta de estos niños de alto riesgo adoptados nos permitirán discutir la importancia relativa de los genes en las bases biológicas de la enfermedad. En este punto hay que señalar que los resultados de los estudios de adopción desarrollados en trastorno bipolar (Mendlewicz y Rayner, 1977) mostraron riesgos similares entre los niños de alto riesgo adoptados y los no adoptados. Los estudios de adopción desarrollados en depresión unipolar muestran, sin embargo, resultados más controvertidos (von Knorring y cols., 1983; Cadoret y cols., 1985; Wender y cols., 1986).

ESTUDIOS DE GEMELOS

El estudio comparado de las concordancias para trastornos depresivos entre gemelos idénticos o monozigóticos (que comparten todos sus genes) con respecto a las concordancias en gemelos no idénticos o dizigóticos (que sólo comparten la mitad de sus genes), es otra de las formas que tenemos de estimar la contribución relativa de genes y ambiente en el origen de estos trastornos. La comparación de las concordancias halladas entre ambos tipos de gemelos, pueden servir para estimar la heredabilidad (h^2) del trastorno. La heredabilidad es una medida estadística del grado en que los genes contribuyen a la variabilidad observada en un carácter o fenotipo.

Genética de la Depresión

De una manera muy simplificada podemos decir que la variabilidad fenotípica (V_f) se divide en variabilidad genética (V_g) y variabilidad ambiental (V_a). Se asume, en el método, que los factores genéticos y los ambientales actúan de forma independiente y que por tanto la variabilidad fenotípica es la suma de las otras dos ($V_f = V_g + V_a$). Tal y como hemos definido anteriormente, y en sentido amplio, la heredabilidad (h^2) se define como la proporción de la varianza genética implicada en la varianza fenotípica ($h^2 = V_g / V_f$).

En general los primeros estudios de gemelos incluyeron entre los probandos a pacientes afectados indistintamente con trastorno bipolar y trastorno unipolar con lo cual la mayor parte de los datos de los que disponemos consideran ambos trastornos conjuntamente en términos de heredabilidad. Según una revisión de Tsuang & Faraone (1990), aproximadamente un 60% de la variabilidad fenotípica presente en los trastornos afectivos puede atribuirse a factores genéticos; sin embargo, los trabajos del grupo de Kendler y cols., dan cifras de heredabilidad relativamente más bajas, situadas entorno al 40% (Sullivan y cols., 2000). Un estudio reciente de Cardno y cols. (1999), llevado a cabo sobre amplias muestras de gemelos del Maudsley Hospital de Londres, estiman heredabilidades realmente altas, incluso superiores al 80%, tanto para el diagnóstico de manía, como para el de depresión mayor. En este estudio también se contemplan heredabilidades para esquizofrenia que se sitúan entorno al mismo valor.

Una de las aportaciones más interesantes de los trabajos de Kendler y colaboradores, hace referencia a la investigación de la posible heterogeneidad etiopatogénica de los trastornos afectivos basándose en los estudios de gemelos (Sullivan y cols., 2000; Kendler and Prescott, 1999); uno de los aspectos interesantes de estos estudios es que están basados, en su mayor parte, en muestras de gemelos obtenidas en la población general. Algunos de los resultados encontrados por estos autores sugieren que la importancia de los factores genéticos de riesgo para la depresión mayor es la misma entre varones que entre mujeres; sin embargo, matizan y sugieren que algunos factores de riesgo son compartidos por ambos sexos pero otros serían característicos de cada uno de ellos. Algunos de estos genes de vulnerabilidad, en el caso del sexo femenino y en base a diferentes tipos de estudios, podrían estar íntimamente relacionados con sutiles diferencias morfológicas y funcionales cerebrales (Biver y cols., 1996; Gutiérrez y cols., 1996). Igualmente es interesante señalar que desde la

Depresión: Estado actual

perspectiva de los estudios de gemelos y según los resultados de Kendler y colaboradores, la depresión recurrente sería la forma que más riesgo familiar acumula; en este mismo sentido algunos rasgos biológicos relacionados con la fisiología del sueño podrían considerarse endofenotipos de alta heredabilidad y por tanto de interés en estudios genéticos moleculares.

Así pues, tanto los estudios de adopción como los estudios de gemelos corroboran la existencia de factores genéticos involucrados directamente en la etiología de los trastornos afectivos, tal y como sugerían los estudios familiares, pero también ponen de manifiesto que estos factores pueden ser distintos dependiendo del perfil clínico de la depresión o del sexo de los individuos, y que los factores ambientales juegan también un papel en la expresión de ese riesgo genético.

¿CÓMO SE TRANSMITE LA ENFERMEDAD DE GENERACIÓN EN GENERACIÓN?

Como acabamos de ver en la depresión existen genes que se transmiten de generación en generación y que están implicados en el riesgo para la depresión. El reto de la genética molecular durante las últimas dos décadas ha sido la de identificar esos genes, proceso que analizaremos posteriormente en este capítulo. En la identificación de genes un paso esencial es conocer el modelo de segregación o transmisión de la enfermedad dentro de la familia.

En los últimos años ha sido posible identificar los genes responsables de algunas enfermedades hereditarias, poco frecuentes pero devastadoras para el individuo que las padece. Este es el caso de la corea de Huntington (Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993), la distrofia muscular de Duchenne (Kunkel et al., 1985) y la fibrosis quística (Rommens et al., 1989; Riordan et al., 1989; Keren et al., 1989).

Todas estas patologías, tan diferentes clínicamente entre sí, comparten dos características desde el punto de vista de la epidemiología genética: son muy infrecuentes (con prevalencias de 1/ 10.000, 1/ 3.500 y 1/ 2.000, respectivamente) y se heredan según un patrón de herencia mendeliano. Como ya ha sido apuntado con anterioridad las distintas formas de depresión no sólo son trastornos muy frecuentes en las pobla-

ciones humanas, sino que además su modo de transmisión en las familias no se ajusta a un modelo mendeliano de herencia.

MODELOS MATEMÁTICOS DE TRANSMISIÓN GENÉTICA EN DEPRESIÓN: ANÁLISIS DE SEGREGACIÓN

Los modelos mendelianos son fácilmente identificables en un análisis segregacional cuando el número de hijos en cada generación es suficientemente numeroso; en ese caso los porcentajes de afectados y el sexo de los mismos darán las claves del tipo de herencia mendeliana al que se ajustan: de tipo dominante, de tipo recesivo o ligada al sexo.

Son excepcionales, por no decir inexistentes, genealogías pertenecientes a enfermos con trastorno bipolar o unipolar donde se pueda identificar un patrón de herencia mendeliano. De hecho, apenas la mitad de los enfermos bipolares presentan antecedentes familiares de trastorno bipolar. Estas cifras son poco conocidas y, por cuestiones obvias de acceso a la información de los antepasados, pueden estar infravaloradas. Datos recientes de Vallès y colaboradores (2000), obtenidos a partir de una muestra hospitalaria de 104 pacientes bipolares, sitúan en un 15.6 % el número de pacientes con antecedentes de trastorno bipolar entre familiares de primer grado. Este porcentaje aumenta a 48.4% cuando se incluyen los diagnósticos de esquizofrenia, trastorno bipolar o depresión mayor. Por tratarse de una muestra de extracción hospitalaria y corresponder a casos especialmente graves, podemos pensar que estos números son elevados. Estudios en población tratada ambulatoriamente deberían ser también considerados en la aproximación definitiva a esta variable.

Si nos aproximamos al posible modelo de herencia para el trastorno bipolar o unipolar, los modelos de *umbral de susceptibilidad* son, quizá, los que mejor explican la transmisión de la enfermedad. En ellos se asume que la variable «susceptibilidad para desarrollar la enfermedad» se distribuye de forma continua en la población, de tal manera que sólo aquellos individuos que sobrepasan un determinado umbral de susceptibilidad manifiestan el trastorno. Según estos modelos, los familiares de individuos afectados tendrían por término medio una susceptibilidad mayor para padecer la enfermedad que la de la población general.

Depresión: Estado actual

Dentro de esta idea del umbral de susceptibilidad son básicamente tres los modelos propuestos: i) *el modelo de un único gen con efecto mayor y penetrancia diferencial*: “single major locus”, ii) *el modelo oligogénico* (acción combinada de pocos genes) y iii) *el modelo poligénico-multifactorial* (acción aditiva combinada de muchos genes y factores ambientales). Asimismo, algunos autores han explorado la posibilidad de que sean genes ligados al cromosoma X los que medien la transmisión del trastorno bipolar.

En conclusión, los análisis de segregación, incluso llegando a grados de complejidad matemática considerable, no han podido determinar un modelo de herencia que pueda acoger a todas las familias en las que se observa presencia de trastorno bipolar o de trastorno unipolar.

ANTICIPACIÓN Y HERENCIA MITOCONDRIAL: OTROS FENÓMENOS DETECTABLES DESDE ESTUDIOS DE SEGREGACIÓN

El fenómeno de anticipación hace referencia al incremento de la severidad y al descenso de la edad de inicio de la enfermedad en generaciones sucesivas. Este fenómeno se ha relacionado claramente en algunas enfermedades, como la distrofia muscular de Duchenne, con la expansión de secuencias repetidas de trinucleótidos. La longitud de las mismas, que se incrementaría de generación en generación, es la que se ha asociado a una mayor severidad del trastorno, y a un inicio más temprano del trastorno (Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993).

El fenómeno de anticipación ha sido identificado en algunos *pedigrees* con trastorno bipolar (McInnis y cols., 1993; Nylander y cols., 1994; Lipp y cols., 1995; Alda y cols., 2000) pero no ha sido todavía resuelto en términos moleculares. Asimismo, algunos trabajos han detectado un exceso de fragmentos de trinucleótidos repetidos en el genoma de los pacientes bipolares comparando con controles (O'Donovan y cols., 1995), pero diversos problemas metodológicos han impedido reconocer por el momento las zonas concretas del genoma donde ubicar los posibles genes candidatos ligados a estas expansiones. Globalmente, no hay bases suficientes para postular que en la etiología del trastorno bipolar haya expansión de trinucleótidos y tampoco existen evidencias de que el fenómeno de anticipación se asocie siempre a la enfermedad.

Genética de la Depresión

El DNA mitocondrial se hereda vía materna y ha sido relacionado con el origen de distintas enfermedades en el hombre. La búsqueda de mutaciones en el DNA mitocondrial ha sido igualmente llevada cabo en los trastornos afectivos, especialmente después de que algunos autores señalaran patrones de herencia en linaje materno en estos trastornos (McMahon y cols., 1995); sin embargo, a pesar de la existencia de algunos trabajos donde se señalan asociaciones con ciertos polimorfismos o presencia de ciertas alteraciones (Kato y cols., 1997; Kato y cols., 2000), los resultados obtenidos hasta ahora no son concluyentes y el interés por el DNA mitocondrial en la búsqueda de genes para la depresión mayor es actualmente limitado.

¿DÓNDE ESTÁN LOCALIZADOS EL GEN O GENES INVOLUCRADOS EN LA VULNERABILIDAD PARA LA DEPRESIÓN?

Dos estrategias principales se han seguido en las últimas décadas para la búsqueda de los genes involucrados en el origen de la depresión: los estudios de ligamiento y los estudios de asociación. En ambos casos los investigadores trabajan sobre muestras de DNA de los pacientes y de controles analizando zonas conocidas del genoma que tienen la cualidad de no ser siempre idénticas entre los individuos, es decir, zonas polimórficas. Por tanto, y dada la importancia de este concepto para comprender lo que es un marcador genético, pasaremos a explicarlo brevemente.

MARCADORES GENÉTICOS: CONCEPTO DE POLIMORFISMO.

Un polimorfismo se define como: i) una secuencia de DNA que se transmite de generación en generación de forma simple, es decir, según los modelos mendelianos clásicos y ii) que la secuencia (que puede ser tan corta como un solo nucleótido o bien ser un fragmento de longitud considerable) debe tener por definición dos o más formas diferentes en la población; estas «variantes» genéticas se denominan alelos.

Dado que nuestra dotación genómica es diploide (2n), es decir, tenemos dos copias de todo el genoma (una procedente de la madre y

Depresión: Estado actual

otra del padre), los alelos podrán combinarse de diferente manera en cada individuo. Así, para el polimorfismo a , la combinación de un alelo a_1 , proveniente de la madre y la de un alelo a_2 , proveniente del padre, dará lugar a un individuo genéticamente heterocigoto a_1a_2 . Si el alelo menos frecuente de este polimorfismo está presente en la población en una frecuencia igual o superior al 1% diremos que a es polimórfico. Si conocemos la ubicación en el genoma de este polimorfismo a , podremos utilizarlo como marcador genético.

ESTUDIOS DE LIGAMIENTO

En los análisis de ligamiento (*linkage*, en inglés) normalmente son utilizadas genealogías en las que la enfermedad se presenta en distintos familiares y en las que se observa un patrón de herencia mendeliano. En estas familias se estudia la segregación de un determinado marcador genético cuya ubicación conocemos ya en el genoma y se observa si hay independencia entre la transmisión de la enfermedad y los diferentes alelos de dicho marcador. En el caso de que la enfermedad y un determinado alelo se transmitieran conjuntamente, podríamos postular la existencia de un gen para la enfermedad situado cerca del polimorfismo utilizado como marcador. La transmisión a la descendencia del marcador y del gen para la enfermedad se habría producido conjuntamente debido a su proximidad. «Estar ligados» significa que marcador y enfermedad se transmiten conjuntamente en la misma región cromosómica más a menudo de lo que se esperaría por azar; en este caso, en un estudio de ligamiento observaremos valores de «*lod score*» (una estimación estadística de esta probabilidad) superiores a 3.

Sin embargo, si el marcador y el gen que determina la enfermedad se encuentran en diferentes cromosomas o en el mismo cromosoma, pero a cierta distancia de tal manera que permite su separación por entrecruzamiento durante la meiosis, no habrá ligamiento y la transmisión de ambos será independiente; en este caso los valores de «*lod score*» son inferiores a -2. Valores comprendidos entre -2 y 3, nos estarían indicando que los resultados no son concluyentes y que por tanto no podemos ni descartar ni aceptar el posible ligamiento del marcador con la enfermedad. (ver Fañanás y Saiz, 2000 para más detalles).

ESTUDIOS DE LIGAMIENTO EN EL TRASTORNO BIPOLAR Y LA DEPRESIÓN MAYOR

Los estudios de ligamiento han sido muy numerosos en la investigación genética del trastorno bipolar, pero también muy contradictorios. En el caso de la depresión mayor, por razones muy relacionadas con la difícil definición de «caso», estos estudios han sido poco frecuentes, y solo en los últimos años algunos grupos han publicado datos.

En la Tabla 1 se recogen sólo algunos de los estudios más relevantes que describen ligamiento entre trastorno bipolar y diferentes zonas del genoma.

La región cromosómica con más historia dentro de los análisis de ligamiento en trastorno bipolar se encuentra en el cromosoma X, concretamente en la zona q27-q28. Fueron Reich y cols. (1969) los primeros en describir ligamiento entre esta región del cromosoma X y el trastorno bipolar. Varios estudios han replicado los resultados de Reich y cols., describiendo un ligamiento entre la enfermedad y los marcadores clásicos daltonismo y la deficiencia a la G6PD, localizados en Xq28 (Baron y cols., 1987). Sin embargo, el reanálisis de estas mismas familias con nuevos marcadores de DNA situados en la misma región disminuyó drásticamente el ligamiento encontrado inicialmente (Baron y cols. 1993). Los estudios posteriores siguen siendo contradictorios, mientras que algunos grupos como el Pekkarinen y cols. (1995) encuentran valores de «*lod score*» superiores a 3, otros grupos como Vallada y cols. (1998) no encuentran resultados concluyentes en este cromosoma.

Una historia similar ocurrió con la región cromosómica 11p15, lugar donde se encuentran los genes de la insulina y del oncogén HRAS. Un primer estudio (Egeland y cols. 1987), en el que se analizó una extensa genealogía Amish con múltiples miembros afectados, describió un «*lod score*» de 4.9. Sin embargo, a excepción de un par de trabajos (Smith y cols. 1996; Malafosse y cols., 1997), estudios posteriores en el cromosoma 11 no han podido replicar los resultados de Egeland y cols. (Mendlewicz y cols., 1991; Byerley y cols., 1992; McInnis y cols., 1998; Detera-Wadleigh y cols., 1998).

El chequeo sistemático de todo el genoma humano, utilizando marcadores localizados en diferentes cromosomas ha producido algunos

Depresión: Estado actual

resultados, mayoritariamente negativos, pero no por ello menos interesantes desde el punto de vista de estas investigaciones. El cromosoma 18 ha sido señalado como candidato en diferentes estudios (Berretini y cols., 1994; Stine y cols., 1995; Freimer y cols., 1996; Knowles y cols., 1998; Nöthen y cols., 1999; Bowen y cols., 1999; Detera-Wadleigh y cols., 1999). Sin embargo, aunque en algunos de estos estudios, el valor de «*lod score*» encontrado se aproxima a 3, los resultados contradictorios obtenidos hasta el momento, no permiten afirmar que exista ligamiento entre el trastorno bipolar y el cromosoma 18.

Tabla 1. Algunas localizaciones cromosómicas en las que se ha estudiado el posible ligamiento con el trastorno bipolar.

Localización	Ligamiento	Año	Referencia
Xq28	≈	1969	Reich et al.
	si	1974-80	Mendlewicz et al.
	≈	1977	Baron
	≈	1984	Del Zompo et al.
	si	1987	Baron et al.
Xq27	≈	1993	Baron et al.
	si	1987	Mendlewicz et al.
	si	1992	Lucotte et al.
Xq24-26	≈	1993	Jeffries et al.
	si	1995	Pekkarinen et al.
21q22	si	1994	Straub et al.
18p	≈	1994	Berretini et al.
18q	≈	1995	Stine et al.
18q	≈	1996	Freimer et al.
18p	≈	1999	Bowen et al.
17q	≈	2000	Mundo et al.
16p13	≈	1995	Ewald et al.
12q23	≈	1994	Craddock et al.
12q23-q24	si	1998	Ewald et al (b).
11p15	si	1987	Egeland et al.
11p15	≈	1996	Smith et al.
11p	si	1997	Malafosse et al.
6p24, 13q13, 15q11	≈	1996	GINNS et al.
5q35	≈	1993	COON et al.
4p16	si	1996	Blackwood et al.
4p16	≈	1998	Ewald et al (a).
4p	≈	1998	Asherson et al.

Si: valores de «*lod score*» superiores a 3

≈: valores de «*lod score*» situados entre 3 y -2. Estos valores no descartan ni confirman el ligamiento, por lo que se consideran resultados no concluyentes.

No: valores de «*lod score*» inferiores a -2

Genética de la Depresión

Otras zonas de ligamiento han sido descritas (ver tabla 1) pero en ningún caso los resultados han sido concluyentes.

Comprender estos resultados contradictorios de los estudios de ligamiento es difícil, y debe hacerse desde el reconocimiento de las limitaciones de un método que es útil estadísticamente cuando se trata de enfermedades de herencia mendeliana y donde hay genes de efecto mayor implicados.

En los análisis de ligamiento es primordial el correcto reconocimiento del fenotipo de los individuos. Por este motivo es tan importante una adecuada definición de «caso». Al establecer la prevalencia psiquiátrica de una familia para un posterior análisis de ligamiento pueden existir «falsos negativos», personas que aún no han enfermado pero que lo harán; o «falsos positivos», diagnósticos erróneos o diagnósticos que cambian posteriormente. Existen factores de corrección que pueden ser aplicados en función de las edades de los miembros de la genealogía y las edades de máximo riesgo descritas desde los estudios epidemiológicos, si bien esto complica mucho los cálculos y hace menos potente estadísticamente el análisis.

Por otro lado, la heterogeneidad genética ha sido propuesta por algunos autores para justificar los contradictorios resultados obtenidos hasta ahora.

En una enfermedad genéticamente compleja, y probablemente heterogénea es altamente improbable que ningún estudio individual tenga el suficiente poder como para dar un resultado claramente positivo. En este sentido, si algún gen de efecto mayor es detectado mediante este método, quizá pueda explicar la enfermedad en determinados linajes, pero no en otros.

Consideraciones semejantes pueden hacerse para referirnos a los resultados hallados en Depresión Mayor (Tabla 2). En estos estudios solo algunos grupos han utilizado una definición de enfermedad que pretende delimitar un subtipo claramente endógeno; el estudio de Balciuniene y cols. (1998) que estudia la existencia de ligamiento bajo la definición fenotípica de «depresión mayor recurrente», o el de Wilson y cols. (1989) con la misma aproximación, no encuentran valores de «*lod score*» claramente positivos.

Depresión: Estado actual

Otros estudios de ligamiento en Depresión Mayor se basan en definiciones extraordinariamente amplias del fenotipo (Lim y cols., 1993; Kawada y cols., 1995; Serretti y cols., 2000)

Tabla 2. Localizaciones cromosómicas en las que se ha descrito ligamiento con trastornos afectivos.

Localización	Ligamiento	Año	Referencia
9q	≈	1989	Wilson et al.
11p	≈	1993	Lim et al.
11p	≈	1995	Kawada et al.
4p	≈	1998	Balciuniene et al.
16	≈	1998	Balciuniene et al.
18	≈	1998	Balciuniene et al.
21	≈	1998	Balciuniene et al.
11q	≈	2000	Serretti et al.
11p	≈	2000	Serretti et al.
3q	≈	2000	Serretti et al.

Si: valores de «lod score» superiores a 3

≈: valores de «lod score» situados entre 3 y -2. Estos valores no descartan ni confirman el ligamiento, por lo que se consideran resultados no concluyentes.

No: valores de «lod score» inferiores a -2

ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN EN TRASTORNO BIPOLAR Y DEPRESIÓN MAYOR

En un estudio de asociación se compara la frecuencia de un posible alelo de riesgo de un gen candidato en personas afectadas por una misma enfermedad, con la frecuencia en individuos sanos del mismo grupo étnico o poblacional. Esta comparación puede poner de manifiesto la existencia de una «asociación» positiva entre un alelo, o combinación de alelos, y la enfermedad, en el caso de encontrar una frecuencia significativamente elevada del alelo en el grupo de enfermos, con respecto al grupo control. Una asociación negativa significa que la frecuencia del alelo es menor entre enfermos que entre controles, y en este caso será un factor «genético» de protección frente a la enfermedad.

El análisis de asociación es un tipo de cálculo tradicional en epidemiología, siendo utilizado muy frecuentemente en el estudio de *otros* factores de riesgo para la enfermedad no necesariamente genéticos. A con-

Genética de la Depresión

tinuación se explica, brevemente, el diseño y estimación de riesgos conferidos por alelos o genotipos de interés en el contexto de los estudios de asociación genética.

Cálculo del riesgo relativo para genes candidatos

Dada una población de enfermos en que a individuos presentan el alelo de riesgo y c no lo presentan, y, siendo las respectivas frecuencias absolutas en controles sanos iguales a b y d , podemos construir la tabla de la Figura 2:

El test de significación estadística más adecuado para valorar si la distribución del marcador genético es equiparable entre enfermos y controles, es una prueba de χ^2 de un grado de libertad. Sin embargo, puede ser muy útil también disponer de una medida del *riesgo relativo* conferido por el polimorfismo considerado. En una población de individuos, este riesgo se calcula dividiendo la proporción de casos observada entre los portadores del alelo de riesgo [$a / (a+b)$], por la proporción de casos observada entre los no- portadores del alelo de riesgo [$c / (c+d)$].

CÁLCULO DEL RIESGO (OR)

	CASOS	CONTROLES	
ALELO DE RIESGO PRESENTE	a	b	a+b
ALELO DE RIESGO AUSENTE	c	d	c+d
	a+c	b+d	

$$\text{Riesgo (OR)} = \frac{a/c}{b/d} = \frac{ad}{bc}$$

Figura 2. Cálculo del riesgo para una enfermedad compleja según la presencia de alelos o variantes genéticas de riesgo.

Depresión: Estado actual

Cuando sólo una pequeña proporción de la población está afectada por la enfermedad, como ocurre en el caso de enfermedades poco frecuentes, a es muy pequeña respecto a b , y c muy pequeña respecto a d . En estos casos, el riesgo se aproxima a $(a \times d) / (b \times c)$. Si nos fijamos, en esta relación se compara el número de casos que irían a favor de la hipótesis (a = enfermos con el marcador y d = sanos sin el marcador) respecto a aquellos casos que la contradicen (c = enfermos sin el marcador y b = sanos con el marcador). En sentido estricto, este cociente (o razón de productos cruzados) es denominado *odds ratio* (OR) aunque con frecuencia este término y el de *riesgo relativo* se confunden y utilizan de manera indistinta.

El OR indica cuántas veces es más frecuente la enfermedad en individuos que poseen el marcador que en individuos que no lo poseen. Una OR igual a 1 (o que no difiera significativamente de 1) indica que no hay diferencia en lo que se refiere a la susceptibilidad para la enfermedad en individuos con el marcador estudiado o sin él. En cambio, un riesgo relativo mayor que 1 indica que ese marcador confiere susceptibilidad para la enfermedad. El valor de OR debe acompañarse siempre de un intervalo de confianza (normalmente del 95%). Este rango de confianza es otro indicador de la significación estadística de la asociación y resulta más informativo que el simple valor de la prueba χ^2 y su p (probabilidad) asociada. Los resultados del análisis de asociación serán tanto más robustos cuanto menor sea el intervalo de error, es decir, cuanto más pequeño sea el intervalo de confianza. Asimismo, la asociación será tanto más significativa, cuando, no incluyendo el valor 1, los extremos del intervalo se alejen más de ese valor.

ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN GENÉTICA EN TRASTORNO BIPOLAR Y DEPRESIÓN MAYOR

En las Tablas 3 y 4 se detallan algunos de los estudios de asociación más relevantes llevados a cabo en trastorno bipolar y trastorno unipolar desarrollados sobre genes candidatos.

Obsérvese que en ambos casos, el camino elegido por los investigadores se ha centrado en genes que codifican proteínas implicadas de alguna manera en las vías de neurotransmisión del SNC. Este es el caso de los genes que codifican para los diferentes receptores de dopamina, espe-

Genética de la Depresión

cialmente de los genes para los receptores D3 y D4 y de la amplísima familia de receptores de serotonina (5-HT), que han sido lo más investigados; genes como el de la tirosina hidroxilasa (TH), enzima limitante de la síntesis de dopamina, la monoamino oxidasa A (MAOA) o la catecol-O-metiltransferasa (COMT), responsables de la metabolización de neurotransmisores han sido igualmente analizados. Otros genes candidatos analizados recientemente han sido los genes de las subunidades 3 y 5 del receptor GABA_A (GABRA3 y GABRA5).

Tabla 3. Estudios de asociación basados en marcadores de DNA situados en genes candidatos para el trastorno bipolar. Los genes investigados se han agrupado según el sistema de neurotransmisión en el que están implicados.

ESTUDIOS	MUESTRA	GENES	ALELOS	ASOCIACION
SISTEMA SEROTONINÉRGICO				
Bellivier y cols. 1998	Francia	TPH	A218C	si
Gutiérrez y cols. 1998b	España	5-HTT	5-HTTLPR/VNTR	no
Ho y col. 2000	U.K.	5-HTT	5-HTTLPR	si
Inayama y cols. 1995	Japón	5-HT _{1A}	A1	si
Arranz y cols. 1995	U.K.	5-HT _{2A}	T102C	no
Gutiérrez y cols. 1995	España	5-HT _{2A}	T102C	no
Massat y cols. 2000	Europa	5-HT _{2A}	T102C	no
Gutiérrez y cols. 1996	España	5-HT _{2C}	Ser23	si
Gutiérrez y col. 1997a	España	5-HT _{2A}	C516T;Thr25Asn,His452Tyr	no
Vogt y col. 2000	Alemania	5-HT ₆	C267T	si
SISTEMA DOPAMINÉRGICO				
Todd & O'Malley, 1989	E.E.U.U.	TH	C1/taqI b/BgII	no
Korner y cols. 1990	Alemania	TH	C1/taqI b/BgII	no
Leboyer y cols. 1990	Francia	TH	C1/taqI b/BgII	si
Gill y cols. 1991	Alemania	TH	C1/taqI b/BgII	no
Inayana y cols. 1993	Japón	TH	C1/taqI b/BgII	no
Meloni y cols. 1995	Francia	TH	BE	si
Stober y cols. 1998	Alemania	DRD2	141C Ins/Del	no
Li y cols. 1999	China	DRD2	Taq1A	si
Shaikh y cols. 1993	U.K.	DRD3	D3/304 D3/206	no
Chiaroni y cols. 2000	Francia	DRD3	Ball/MspI RFLPs	si
Pérez de Castro y cols. 1994	España	DRD4	VNRT	no
Kirov y cols. 1999	U.K.	DAT1	VNTR	no
SISTEMA GABAÉRGICO				
Puertollano y cols. 1995	España	GABRA3	A1, A4	no
ENZIMAS IMPLICADOS EN EL METABOLISMO DE NEUROTRANSMISORES				
Gutiérrez y cols. 1997b	España	COMT	C256G, Val108Met	no
Mynett-Johnson y cols. 1998	Irlanda	COMT	Val108Met	no
Lim y cols. 1994	Alemania	MAOA	MAOA*a2 MAOA*a5	si
Kawada y cols. 1995	Japón	MAOA	MAOA*a2 MAOA*a5	si
Nöthen y cols. 1995	Alemania	MAOA	MAOA*a2 MAOA*a5	no
Ho y cols. 2000	U.K.	MAOA	VNTR	si

Depresión: Estado actual

Tabla 4. Estudios de asociación basados en marcadores de DNA situados en genes candidatos para la depresión mayor. Los genes investigados se han agrupado según el sistema de neurotransmisión en el que están implicados.

ESTUDIOS	POBLACION	GENES	ALELOS	ASOCIACION
SISTEMA SEROTONINÉRGICO				
Frisch y cols. 1999	Israel	TPH	A218C	no
Dikeos y cols. 2000	Grecia	TPH	A218C	no
Ogilvie y cols. 1996	U.K.	5-HTT	VNTR	si
Collier y cols. 1996	Europeo	5-HTT	VNTR	si
Hoche y cols. 1998	Francia	5-HTT	5-HTTLPR	no
Furlong y cols. 1998	U.K.	5-HTT	5-HTTLPR	si
Ohara y cols. 1998b	Japan	5-HTT	5-HTTLPR	no
Guítez y cols. 1998c	España	5-HTT	VNTR/5-HTTLPR	si
Frisch y cols. 1999	Israel	5-HTT	5-HTTLPR	no
Serreti y cols. 2000	Italia	5-HT _{1A}	Ile28Val	no
Ohara y cols. 1998*	Japón	5-HT _{2A}	-1438G/A	no
Frisch y cols. 1999	Israel	5-HT _{2A}	T102C	no
Du y cols. 2000	Canada	5-HT _{2A}	T102C	no
Arias y cols. (in press)	España	5-HT _{2A}	T102C	si
Serreti y cols. 2000	Italia	5-HT _{2C}	Cys23Ser	no
Frisch y cols. 1999	Israel	5-HT _{2C}	Cys23Ser	no
Lerer y cols. 2000	Europeo	5-HT _{2C}	Cys23Ser	si
Arias y cols. 2000b	España	5-HT _{2C}	(GT)12-18/(CT)4-5	si
Birkett y cols. 2000	U. K	5-HT _{3A}	G19C/A12T	si
Arias y cols. 2000a	España	5-HT _{3A}	G19C/A12T	no
SISTEMA DOPAMINÉRGICO				
Oruc y cols. 1997	Croacia	TH	VNTR	no
Serreti y cols. 1998	Italia	TH	VNTR	si
Rosa y cols. 2000	España	TH	VNTR	no
Manki y cols. 1996	Japón	DAT1	VNTR	no
Frisch y cols. 1999	Israel	DAT1	VNTR	no
Manki y cols. 1996	Japón	DRD2	Ser311Cys	no
Ho y cols. 2000	U.K.	DRD3	VNTR	si
Manki y cols. 1996	Japón	DRD3	Ser311Gly	no
Manki y cols. 1996	Japón	DRD4	VNTR	si
Oruc y cols. 1997	Croacia	DRD4	VNTR	no
Frisch y cols. 1999	Israel	DRD4	VNTR	no
SISTEMA GABAÉRGICO				
Papadimitriou y cols. 2000	Grecia	GABRA5	VNTR	no
ENZIMAS IMPLICADOS EN EL METABOLISMO DE NEUROTRANSMISORES				
Frisch y cols. 1999	Israel	COMT	Val108Met	no
Rosa y cols. 2000	España	COMT	C256G/Val108Met	no
Lin y cols. 2000	China	MAOA	(CA)n	no
Lin y cols. 2000	China	MAOB	(GT)n	no
Lin y cols. 2000	China	MAOB	(TG)n	no

Genética de la Depresión

De manera muy sintética, los estudios realizados hasta el momento han encontrado asociación entre variantes alélicas de los genes del recaptador de serotonina y del receptor 5-HT_{2C}, tanto para el trastorno bipolar como para la depresión mayor.

Las asociaciones descritas para el gen de la MAOA (Lim y cols., 1994; Kawada y cols., 1995; Ho y cols., 2000), se centran exclusivamente en el trastorno bipolar.

Algunos estudios han descrito asociación, tanto en pacientes bipolares como en unipolares, entre variantes de genes del sistema dopaminérgico y la enfermedad. Con la excepción de los hallazgos relativos al gen 5-HTT y al exceso de la variante alélica 484 de la zona promotora, entre pacientes, los resultados de los estudios de asociación ofrecen también resultados contradictorios.

Por otro lado, estudios de cohorte y distintos meta-análisis sugieren que algunos de los hallazgos que constituyen los pilares de la teoría del neurodesarrollo alterado en esquizofrenia no serían específicos de este trastorno. Por ejemplo, distintos autores han descrito en algunos individuos con trastorno bipolar un incremento de las complicaciones obstétricas, un aumento del volumen de los ventrículos cerebrales, un exceso de déficits motores, cognitivos y sociales durante la infancia de los pacientes y un incremento en malformaciones congénitas dermatoglíficas (Kinney y cols., 1993; Elkis y cols., 1995; Gutiérrez y cols., 1998a). En este sentido, los genes implicados en el control del desarrollo se perfilan también como genes candidatos, al menos para algunas formas graves de trastorno bipolar.

ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN Y HETEROGENEIDAD BIOLÓGICA EN LA DEPRESIÓN

Los estudios de asociación genética, basados en el análisis de la variabilidad normal de genes bien conocidos, han permitido investigar los efectos genéticos, en hipótesis pequeños, sobre fenotipos como la depresión en los que con seguridad están implicados, también, factores de riesgo ambiental. La posibilidad de estudiar la distribución de estas variantes genéticas en subgrupos de pacientes definidos *a priori* en base a su perfil clínico, historia psiquiátrica familiar, o presencia de determinados

Depresión: Estado actual

marcadores biológicos, ha permitido explorar la existencia de heterogeneidad genética dentro de los diagnósticos de trastorno bipolar y de la depresión mayor.

En este sentido, Gutiérrez y cols. (1996), llevaron a cabo un estudio basado en el gen del receptor post-sináptico 5-HT_{2C} y desarrollado sobre una muestra de pacientes diagnosticados de trastorno bipolar en los que se había explorado en profundidad la prevalencia psiquiátrica familiar (Vallés y cols., 1996); en este estudio se puso de manifiesto una mayor susceptibilidad para la enfermedad entre las mujeres con trastorno bipolar portadoras de dos alelos del polimorfismo estudiado (Ser23) y que presentaban antecedentes familiares de esquizofrenia, trastorno bipolar o depresión mayor. Otra estrategia puede ser el análisis de estas variantes genéticas en subgrupos de pacientes definidos desde sus características clínicas. En este sentido, es bien conocida la hipótesis de que los pacientes con depresión mayor que presentan melancolía, constituirían un grupo diferenciado de pacientes, grupo definido por su endogeneidad en la literatura especializada (Akiskal y McKinney, 1973; Angst, 1988). Basándose en esta hipótesis, Gutiérrez y cols. (1998c), analizaron dos zonas polimórficas del gen del transportador de serotonina en una muestra de pacientes con depresión mayor melancólica, describiendo una asociación genética entre la combinación genética 484-Stin 10 y esta forma de depresión (OR=2.53 (95% CI, 1.21-5.34)).

Más recientemente, Arias y cols. (en prensa) han analizado la variabilidad del gen 5-HT_{2A} en una muestra de 159 pacientes diagnosticados de depresión mayor según criterios diagnósticos DSM-IV y en una muestra 164 controles. Estos pacientes fueron investigados para distintas variables clínicas de interés etiopatogénico; entre dichas variables se incluyó la exploración de un posible patrón estacional en la manifestación de los episodios depresivos. En base a este último criterio, se definieron dos subgrupos de pacientes, unos que manifestaban su enfermedad según un patrón estacional (ampliamente definido), frente un segundo grupo donde no se identificaba dicho patrón. El primer grupo presentó en los análisis genéticos un exceso del alelo C102 del gen candidato analizado, con respecto al grupo no estacional ($\chi^2=10.63$, $gl=2$, $P=0.004$). Si se consideraba a los portadores del alelo C102 (individuos con genotipo C102/C102 o C102/T102) respecto a los no portadores y se comparaban ambos grupos de pacientes, el riesgo conferido por estos genotipos para sufrir depresión mayor con patrón estacional era casi de 8 (OR=7.57

Genética de la Depresión

(95% CI: 1.65-48.08). Es interesante señalar que este subgrupo de riesgo se caracterizaba además por: una edad de inicio más temprana para la enfermedad, episodios índices más severos en base a los test de Hamilton, un mayor número de intentos de suicidio, y la presencia de melancolía; para todas estas características el grupo estacional fue estadísticamente peor que el grupo no-estacional.

FARMACOGÉNICA Y DEPRESIÓN

El término farmacogenética, utilizado por primera vez por Vogel (1978) y Motulsky (1969), hace referencia a la relación existente entre el perfil genético de un individuo y la respuesta clínica al tratamiento con un determinado fármaco. La farmacogenética supone el estudio de los factores genéticos que influyen sobre el modo en el que el fármaco actúa sobre el organismo (farmacodinamia), y de los factores genéticos que modulan la forma en la que el organismo actúa sobre el fármaco (farmacocinética).

En los últimos años, algunos estudios han puesto de manifiesto la relación entre ciertas variantes de genes implicados en los mecanismos de acción de algunos psicofármacos, y la respuesta clínica del paciente a dichos tratamientos. Los primeros estudios controlados de farmacogenética en psiquiatría se desarrollaron a finales de los 90 sobre muestras de pacientes con esquizofrenia que habían sido tratados con el antipsicótico clozapina. En estos primeros estudios (Arranz y cols., 1995) pusieron de manifiesto la relación entre una variante del gen 5-HT_{2A} (C102) y la mala respuesta clínica al tratamiento. Estudios posteriores, incluyendo el análisis de variantes genéticas de genes implicados en la síntesis de otras moléculas diana para este fármaco (dopaminérgicos, serotoninérgicos, alfa-adrenérgicos e histamínicos), han confirmado la utilidad de la farmacogenética en la predicción de la respuesta clínica al tratamiento para este antipsicótico (Arranz y col, 2000); en este estudio la capacidad predictiva de respuesta al tratamiento del amplio perfil genético individual manejado, alcanzaba valores del 76.6%.

De manera similar, en los tres últimos años se han llevado a cabo los primeros estudios de farmacogenética en pacientes afectados por depresión mayor. Estos primeros estudios se han basado en la res-

Depresión: Estado actual

puesta clínica a antidepresivos inhibidores de la recaptación de serotonina (ISRS). Los ISRS actúan selectivamente sobre el recaptador de serotonina, proteína localizada en la membrana pre-sináptica, bloqueando su mecanismo de recaptación de serotonina del espacio intersináptico.

El gen 5-HTT, que codifica para el recaptador de serotonina (SERT), se localiza en el cromosoma 17q12, y presenta un polimorfismo en la zona promotora con dos variantes alélicas, la 528 y la 484. Según algunos estudios realizados «in vitro» (Lesch y cols., 1996) la presencia del alelo corto 484 parece determinar una menor expresión del gen, y en consecuencia un número menor de transportador de serotonina en la membrana neuronal.

Esmeraldi y cols. (1998), basándose en una muestra de 102 pacientes diagnosticados de depresión mayor y tratados con fluvoxamina, mostraron que la respuesta clínica al tratamiento a las 6 semanas era peor si el paciente era portador del alelo 484. Resultados similares fueron obtenidos por Zanardi y cols. (2000) en una nueva muestra de enfermos depresivos tratados, en este caso, con paroxetina. Dentro de esta misma línea, Arias y cols. (2000c), han investigado recientemente la respuesta clínica al tratamiento con otro ISRS, citalopram, en una muestra española de 100 pacientes diagnosticados de depresión mayor. En este trabajo la respuesta clínica al tratamiento valorada cada 4 semanas y hasta el tercer mes, permite establecer la categoría de remisión o ausencia de remisión en cada paciente, a diferencia de los estudios anteriores de más corto seguimiento. En este sentido, y aun encontrando un exceso del alelo 484 entre el grupo de pacientes que no remiten al tercer mes de tratamiento, los resultados no muestran una clara asociación. Parece por tanto, que esta forma alélica juega un *rol* como predictor de respuesta, aunque su efecto no parece ser de la misma magnitud para los distintos fármacos antidepresivos investigados. Futuras investigaciones deberán ser desarrolladas para establecer en qué medida otros factores genéticos no controlados en estos estudios pueden estar produciendo estas diferencias individuales en la respuesta clínica al tratamiento; aspectos inherentes a la potencia o capacidad selectiva de los distintos ISRS utilizados en los diferentes estudios realizados deben ser igualmente investigados en futuros trabajos.

CONCLUSIONES

Dentro de las aproximaciones cuantitativas a la genética del trastorno bipolar y la depresión mayor, los estudios familiares constatan la importancia de los factores genéticos en el origen de estos trastornos. Muchos aspectos metodológicos han sido mejorados en los últimos años, desde las entrevistas diagnósticas al tratamiento estadístico de los datos, que, actualmente, incorporan aspectos fundamentales de la epidemiología del trastorno como el riesgo diferencial por edad y sexo. Queda patente, en todos estos trabajos, que el riesgo para el trastorno bipolar y la depresión mayor aumenta con relación al número de genes compartidos con una persona afectada pero que, en términos genéticos y dados los riesgos diferenciales encontrados, existe también un cierto solapamiento entre ambos trastornos y la esquizofrenia. Estos datos hacen reflexionar sobre el significado del riesgo genético detectado en las familias y su especificidad. Quizás los estudios genéticos tengan que abandonar la definición categorial de los fenotipos y empezar a utilizar las dimensiones de la psicopatología para delimitar los verdaderos subgrupos genéticos existentes en las psicosis funcionales. Esta perspectiva, nuevamente retomada en los últimos años por diferentes equipos e investigada mediante técnicas estadísticas de análisis multivariante, puede abrir nuevos caminos sobre los que la epidemiología genética y la genética molecular pueda trabajar en estrecha relación (Peralta y cols., 1992).

Resulta difícil la comprensión de cualquier característica compleja del ser humano sin considerar simultáneamente el efecto de genes y ambiente, entendiendo este último en su sentido más amplio. La depresión es, sin duda, un complejo fenotipo, probablemente heterogéneo en su biología y en su etiología. Los estudios genéticos han contribuido a esclarecer algunos aspectos de esa heterogeneidad, pero todavía nos encontramos lejos de poder establecer las bases moleculares de la misma.

La comprensión de las complejas interacciones entre genes y ambiente, especialmente durante las etapas ontogénicas claves del desarrollo del sistema nervioso central, y también a lo largo de la vida, serán la base de la genética psiquiátrica del futuro más inmediato.

Depresión: Estado actual

BIBLIOGRAFÍA

- Akiskal, M., y Mc Kinney W. 1973. Depressive disorders: toward a unified hypothesis. *Science*, 182: 20-29.
- Alda, M., Grof, P., Ravindran, L., Cavazzoni, P., Duffy, A., Grof, E., Zvolský, P., Wilson, J. 2000. Anticipation in bipolar affective disorder: is age at onset a valid criterion?. *American Journal of Medical Genetics* 96:804-807.
- Angst, J. 1966. Zur aetiologie und nosologie endogener depressiver psychosen, In: Monographien aus der neurologie und psychiatrie. Springer-Verlag, Berlin.
- Angst, J. 1988. Clinical course of affective disorders. En Helgason, T., y Daly, R. (dirs.): Depressive illness: Prediction of course and outcome. Springer, Berlin.
- Arias, B., Collier, DA., Gutiérrez, B., Pintor, L., Gastó, C., Martín, B., Fañanás, L. 2000 (a). Genetic variation of the 5-HT_{2A} receptor gene does not increase the risk for major affective disorders. *American Journal of Medical Genetics* 96(4):497
- Arias, B., Collier, DA., Pintor, L., Gutiérrez, B., Gastó, C., Catalán, R., Fañanás, L. 2000 (b). Genetic variation of the 5-HT_{2C} receptor gene and risk for major depression: an association study. *American Journal of Medical Genetics* 96(4):497
- Arias, B., Gastó, C., Catalán, R., Gutiérrez, B., Imaz, M.L., Pintor, L., Fañanás, L. 2000 (c). Variation in the serotonin transporter gene and clinical response to citalopram in major depression. *American Journal of Medical Genetics* 96(4):536
- Arias, B., Gutiérrez, B., Pintor, L., Gastó, C., Fañanás, L. Variability of the 5-HT_{2A} receptor gene is associated with seasonal pattern in major depression. *Molecular Psychiatry* (in press)
- Arranz, MJ, Collier, DA, et al. 1995. Association between clozapine response and allelic variation in 5-HT_{2A} receptor gene. *The Lancet*, 346: 281-282.
- Arranz, M. J., Munro, J., Birkett, J., Bolonna, A., Mancama, D., Sodhi, M., Lesch, K. P., Meyer, J. F., Sham, P., Collier, D. A., Murray, R. M., Kerwin, R. W. 2000. Pharmacogenetic prediction of clozapine response. *The Lancet* 355:1615-1616.

Genética de La Depresión

- Asherson, P., Mant, R., Williams, N., Cardno, A., Jones, L., Murphy, K., Collier, D.A., Nanko, S., Craddock, N., Morris, N., Muir, W., Clackwood, B., McGuffin, P., Owen, M.J. 1998. A study of chromosome 4p markers and dopamine D5 receptor gene in schizophrenia and bipolar disorder. *Molecular Psychiatry* 3 (4): 310-320.
- Balciuniene, J., Yuan, Q.P., Engstrom, C., Lindblad, K., Nylander, P.O., Sundvall, M., Schalling, M., Pettersson, U., Adolfsson, R., Jazin, E.E. 1998. Linkage analysis of candidate loci in families with recurrent major depression. *Molecular Psychiatry*, 3: 162-168.
- Baron, M. 1977. Linkage between an X-chromosome marker (deutan color blindness) and bipolar affective illness. *Archives of General Psychiatry*, 24: 721-727.
- Baron, M, Risch, N, et al. 1987. Genetic linkage between X-chromosome markers and bipolar affective illness. *Nature*, 326: 289-292.
- Baron, M, Freimer, NF, et al. 1993. Diminished support for linkage between manic depressive illness and X-chromosome markers in three Israeli pedigrees. *Nature Genetics*, 3: 49-55.
- Bellivier, F, Leboyer, M., Courtet, P., Buresi, C., Beaufile, B., Samolyk, D., Allilaire, J. F, Feingold, J., Mallet, J., Malafosse, A. 1998. Association between the tryptophan hydroxylase gene and manic-depressive illness. *Archives of General Psychiatry*, 55: 33-7.
- Berretini, WH, Ferraro, TN, et al. 1994. Chromosome 18 DNA markers and manic-depressive illness: evidence for a susceptibility gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 91: 5918-5921.
- Birkett, J. T., Arranz, M. J., Munro, J., Osbourn, S., Kerwin, R. W., Collier, D. A. 2000. Association analysis of the 5-HT5A gene in depression, psychosis and antipsychotic response. *Neuroreport* 11 (9): 2017-2020.
- Biver, F, Lotstra, F, et al. 1996. Sex difference in 5HT2 receptor in the living human brain. *Neuroscience Letters*, 204: 25-28.
- Blackwood, DHR, He, L, et al. 1996. A locus for bipolar affective disorder on chromosome 4p. *Nature Genetics*, 12: 427-430.
- Bowen, T, Kirow, G., Gill, M., Spurlock, G., Vallada, H.P., Murray, R.M., McGuffin, P., Collier, D.A., Owen, M.J., Craddock, N. 1999.

Depresión: Estado actual

- Linkage studies of bipolar disorder with chromosome 18 markers. *American Journal of Medical Genetics* 88: 503-509.
- Byerley, W, Plaetke, R, et al. 1992. Tyrosine hydroxylase gene not linked to manic-depression in seven of eight pedigrees. *Human Heredity*, 42: 259-263.
 - Cadoret, R.J. 1978. Evidence for genetic inheritance of primary affective disorder in adoptees. *American Journal of Psychiatry*, 135: 463-466.
 - Cadoret, R. J., O'Gorman, T. W., Heywood, E., Troughton, E. 1985. Genetic and environmental factors in major depression. *Journal of affective disorders*, 9(2): 155-164
 - Cardno, A. G., Marshall, E. J., Coid, B., Macdonald, A. M., Ribchester, T. R., Davies, N. J., Venturi, P., Jones, L. A., Lewis, S. W., Sham, P. C., Gottesman, II, Farmer, A. E., McGuffin, P., Reveley, A. M., Murray, R. M. 1999. Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series. *Archives of General Psychiatry* 56:162-168
 - Chiaroni, P., Azorin, J.M., Dassa, D., Henry, J.M., Giudicelli, S., Malthiery, Y., Planells, R. 2000. Possible involvement of dopamine D3 receptor locus in subtypes of bipolar affective disorder. *Psychiatric Genetics* 10 (1): 43-49.
 - Collier, D. A., Stober, G., Li, T., Heils, A., Catalano, M., Di Bella, D., Arranz, M. J., Murray, R. M., Vallada, H. P., Bengel, D., Muller, C. R., Roberts, G. W., Smeraldi, E., Kirov, G., Sham, P., Lesch, K. P. 1996. A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders. *Molecular Psychiatry* 1:453-460.
 - Coon, H, Jensen, S, et al. 1993. A genome-wide search for genes predisposing to manic-depression, assuming autosomal dominant inheritance. *American Journal of Human Genetics*, 52: 1234-1249.
 - Craddock, N et al. 1994. Familial cosegregation of major affective disorder and Darier's disease (keratosis follicularis). *British Journal of Psychiatry*, 164: 355-358.
 - Crow, T.J. 1994. The demise of the kraepelinian binary system as a prelude to genetic advance, In: Genetic approaches to mental disorders. American psychopathological association series, Washington.

Genética de la Depresión

- Del Zompo, M, Brochetta, A, et al. 1984. Linkage between x-chromosome markers and manic depressive illness: two Sardinian pedigrees. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 70: 282-287.
- Detera-Wadleigh, S.D., Badner, J.A.; Berretinin, W.H., Yoshikawa, T., Goldin, L.R., Turner, G., Rollins, D.Y., Moses, T., Sanders, A.R., Karkera, J.D., Esterling, L.E., Zeng, J., Ferraro, T.N., Guroff, J.J., Kazuba, D., Maxwell, M.E., Nurnberger, J.I., Gershon, E.S. 1999. A high density genome scan detects evidence for a bipolar disorder susceptibility locus on 13q32 and other potential loci on 1q32 and 18p11.2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 (10): 5604-5609.
- Detera-Wadleigh, S.D., Yoshikawa, T., Pedigaru, M., Berretini, W.H., Badner, J.A., Sanders, A., Goldin, L., Turner, G., Rollins, D., Moses, T., Esterling, L., Gershon, E.S. 1998. **Genome screen and candidate gene analysis in bipolar disorder.** *American Journal of medical genetics*, 81:463.
- Dikeos, DG., Papadimitriou, GN., Karadima, G., Avramopoulos, D., Daskalopoulou, EG., Stefanis, CN. 2000. No evidence of association between the TPH gen and affective disorders. *American Journal of Medical Genetics* 96(4):499 (Personal communication)
- Du, L., Bakish, D., Lapierre, Y. D., Ravindran, A. V., Hrdina, P. D. 2000. Association of polymorphism of serotonin 2A receptor gene with suicidal ideation in major depressive disorder. *American Journal of Medical Genetics* 96:56-60.
- Egeland, JA, Gerhard, DS, et al. 1987. Bipolar affective disorders linked to DNA markers on chromosome 11. *Nature*, 325: 783-787.
- Elkis, H, Friedman, L, et al. 1995. Meta-analyses of studies of ventricular enlargement and cortical sulcal prominence in mood disorders. *Archives of General Psychiatry*, 52: 735-746.
- Esmeraldi, E., Zanardi, R., Benedetti, F., Di Bella, D., Perez, J., Catalano, M. 1998. Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Molecular Psychiatry* 3 (6):508-511.
- Ewald, H., Mors, O., Flint, T., Koed, K., Eiberg, H., Kruse, T. A. 1995. A possible locus for manic depressive illness on chromosome 16p13. *Psychiatric Genetics*, 5: 71-81.

Depresión: Estado actual

- Ewald, H., Degn, B., Mors, O., Kruse, T.A. 1998 (a). Support for the possible locus on chromosome 4p16 for bipolar disorder. ***Molecular Psychiatry*** 3 (5): 442-448.
- Ewald, H., Degn, B., Mors, O., Kruse, T.A. 1998 (b). Significant linkage between bipolar disorder and chromosome 12q24. ***Psychiatric Genetics*** 8 (3): 131-140.
- Fañanás, L y Saiz, J, Eds. 2000. Manual de introducción a la genética en psiquiatría. Ed. Masson.
- Freimer, NB, Reus, VI, et al. 1996. Genetic mapping using haplotype, association and linkage methods suggests a locus for severe bipolar disorder (BPI) at 18q22-q23. ***Nature Genetics***, 12: 436-441.
- Frisch, A., Postilnick, D., Rockah, R., Michaelovsky, E., Postilnick, S., Birman, E., Laor, N., Rauchverger, B., Kreinin, A., Poyurovsky, M., Schneidman, M., Modai, I., Weizman, R. 1999. Association of unipolar major depressive disorder with genes of the serotonergic and dopaminergic pathways. ***Molecular Psychiatry*** 4:389-392.
- Furlong, R. A., Ho, L., Walsh, C., Rubinsztein, J. S., Jain, S., Paykel, E. S., Easton, D. F., Rubinsztein, D. C. 1998. Analysis and meta-analysis of two serotonin transporter gene polymorphisms in bipolar and unipolar affective disorders. ***American Journal of Medical Genetics*** 81:58-63.
- Gershon, E.S., Hamovit, J., Guroff, J.J., Dibble, E., Leckman, J.F., Sceery, W., Targum, S.S., Nurnberger, J., Goldin, L.R., Bunney, W.E. 1982. A family study of schizoaffective, bipolar I, bipolar II, unipolar, and normal control probands. ***Archives of General Psychiatry*** 39: 1157-1167.
- Gill, M, Castle, D, et al. 1991. Tyrosine hydroxylase polymorphism and bipolar affective disorder. ***Journal of Psychiatry Research***, 25: 179-184.
- Ginns, EI, Ott, J, et al. 1996. A genome-wide search for chromosomal loci linked to bipolar affective disorder in the Old Order Amish. ***Nature Genetics***, 12: 431-435.
- Gutiérrez, B, Arranz, MJ, et al. 1995. Association between 5-HT2A receptor gene and bipolar affective disorder. ***The Lancet***, 346: 969.
- Gutiérrez, B, Bertranpetit, J, et al. 1997(a). Genetic variation of the 5-HT2A receptor gene and bipolar affective disorder. ***Human Genetics***, 100: 582-584.

Genética de la Depresión

- Gutiérrez, B, Bertranpetit, J, et al. 1997(b). Association analysis between COMT gene and bipolar affective disorder. *American Journal of Psychiatry*, 154:113-115.
- Gutiérrez, B, Fañanás, L, et al. 1996. Allelic association analysis of the 5-HT_{2C} receptor gene in bipolar affective disorder. *Neuroscience Letters*, 212: 65-67.
- Gutierrez, B., Van Os, J., Valles, V., Guillamat, R., Campillo, M., Fananas, L. 1998a. Congenital dermatoglyphic malformations in severe bipolar disorder. *Psychiatry Research* 78 (3):133-140
- Gutiérrez, B., Arranz, Mj., Collier, D., Vallès V., Guillamat, R., Murray, R.M, Fañanás, L. 1998b. Genetic variation in the serotonin transporter gene and risk for bipolar disorder: an association study in Spanish population. *Biological Psychiatry* 43(11): 843-847
- Gutierrez, B., Pintor, L., Gasto, C., Rosa, A., Bertranpetit, J., Vieta, E., Fananas, L. 1998c. Variability in the serotonin transporter gene and increased risk for major depression with melancholia. *Human Genetics* 103:319-322.
- Ho, L. W., Furlong, R. A., Rubinsztein, J. S., Walsh, C., Paykel, E. S., Rubinsztein, D. C. 2000. Genetic associations with clinical characteristics in bipolar affective disorder and recurrent unipolar depressive disorder. *American Journal of Medical Genetics* 96: 36-42.
- Hoche, M. R., Wendel, B., Grunewald, I., Chiaroni, P., Levy, N., Morris-Rosendahl, D., Macher, J. P., Sander, T., Crocq, M. A. 1998. Serotonin transporter (5-HTT) gene polymorphisms are not associated with susceptibility to mood disorders. *American Journal of Medical Genetics* 81:1-3.
- Huntington's Disease Collaborative Research Group, 1993. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosome. *Cell*, 72:971-983.
- Inayama, Y, Yoneda, H, et al. 1993. Lack of association between bipolar affective disorder and tyrosine hydroxylase DNA marker. *American Journal of Medical Genetics*, 48: 87-89.
- Inayama, Y, Yoneda, H, et al. 1995. HTR1A Pro16/Leu16 polymorphism in bipolar affective disorder. *Psychiatric Genetics*, 5: 83.
- Jeffries, F, Reiss, A, et al. 1993. Bipolar spectrum disorder and fragile X syndrome: a family study. *Biological Psychiatry*, 33: 213-216.

Depresión: Estado actual

- Kato, T., Colin Stine, O., McMahon, F., Crowe, R.R. 1997. Increased levels of a mitochondrial DNA deletion in the brain of patients with bipolar disorder. *Biological Psychiatry*, 42:871-875.
- Kato, T., Kunugi, H., Nanko, S., Kato, N. 2000. Association of bipolar disorder with the 5178 polymorphism in mitochondrial DNA. *American Journal of Medical Genetics*, 96: 182-186.
- Kawada, Y., Hattori, M., Fukuda, R., Arai, H., Inoue, R., Nanko, S. 1995. No evidence of linkage or association between tyrosine hydroxylase gene and affective disorders. *Journal of affective disorders*, 34 (2):89-94.
- Kendler, K.S., Prescott, C.A. 1999. A population-based twin study of life time major depression in men and women. *Archives of General Psychiatry* 56:39-44.
- Kerem, BS, Rommens, JR, et al. 1989. Identification of the cystic fibrosis gene: Genetic analysis. *Science*, 245: 1073-1078.
- Kinney, DK, Yurgelun-Todd, DA, et al. 1993. Obstetrical complications in patients with bipolar disorder and their siblings. *Psychiatric Research*, 48: 47-56.
- Kirov, G., Jones, I., McCandless, F., Craddock, N., Owen, M.J. 1999. Family-based association study of bipolar disorder with candidate genes involved in dopamine neurotransmission:DBH, DAT1, COMT, DRD2, DRD3 and DRD5. *Molecular Psychiatry* 4 (6): 558-565.
- Knowles, J.a; Rao, P.A., Cox matise, T., Loth, J.E., de Jesus, G.M., Levine, L., Das, K., Penchaszadeh, G.K., Alexander, J.R., Lerer, B., Endicott, J., Ott, J., Gilliam, T.C., Baron, M. 1998. No evidence for significant linkage between bipolar affective disorder and chromosome 18 pericentromeric markers in a large series of multiplex extended pedigrees. *American Journal of Human Genetics*, 62 (4): 916-924.
- Korner, J, Fritze, O, et al. 1990. RFLP alleles at the tyrosine hydroxylase locus: no association found to affective disorders. *Psychiatric Research*, 32: 275-280.
- Kraepelin, E. 1922. Manic depressive insanity and paranoia. E. & S. Livingstone, Edinburgh.
- Kunkel, LM, Monaco, AP, et al. 1985. Specific cloning of DNA fragments absent from the DNA of a male patient with an X

Genética de la Depresión

- chromosome deletion. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 82: 4778-4782.
- Leboyer, M, Malafosse, A, et al. 1990. Tyrosine hydroxylase polymorphisms associated with manic depressive illness. *The Lancet*, 335: 1219.
 - Lerer. B., Mendlewicz, J. 2000. Variability of 5-HT_{2C} receptor Cys23Ser polymorphism in european populations and vulnerability to affective disorder. *American Journal of Medical Genetics* 96(4):484 (Personal communication).
 - Lesch, K.P, Bengel, D., Heils, A., Sabol, S.Z., Greenberg, B.D., Petri, S., Benjamin, J., Müller, C.R., Hamer, D.H., Murphy, D.L. 1996. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*, 274:1527-1531
 - Li, T., Liu, X., Sham, P.C., Aitchison, K.J., Cai, G., Arramd, M.J., Deng, H., Liu, J., Kirow, G., Murray, R.M., Collier, D.A. 1999. Association analysis between dopamine receptor genes and bipolar affective disorder. *Psychiatry Research* 86 (3): 193-201.
 - Lim, L.C., Gurling, H., Curtis, D., Brynjolfsson, J., Ptursson, H., Gill, M. 1993. Linkage between tyrosine hydroxylase gene and affective disorder cannot be excluded in two of six pedigrees. *American Journal of Medical Genetics* 48 (4): 223-228.
 - Lim, LC, Powell, JF, et al. 1994. Monoamine oxidase A gene and bipolar affective disorder. *American Journal of Human Genetics*, 54: 1122-1124.
 - Lin, S., Jiang, S., Wu, X., Qian, Y., Wang, D., Tang, G., Gu, N. 2000. Association analysis between mood disorder and monoamine oxidase gene. *American Journal of Medical Genetics* 96:12-14.
 - Lipp, O, Souery, D, et al. 1995. Anticipation in affective disorders. *Psychiatric Genetics*, 5: 8-9.
 - Lucotte, G, Landoulsi, A, et al. 1992. Manic depressive illness is linked to factor IX in a French pedigree. *Annales de Génétique*, 35: 93-95.
 - Maier, W, Lichtermann, D, et al. 1993. Continuity and discontinuity of affective disorders and schizophrenia. Results of a controlled family study. *Archives of General Psychiatry*, 50: 871-883.
 - Malafosse, A., Leboyer, M., d'Amato, T., Amadeo, S., Abbar, M., Champion, D., Canseil, O., Castelnau, D., Gheysen, F., Granger, B.,

Depresión: Estado actual

- Henrikson, B., Poirier, M. F., Sabate, O., Samolyk, D., Feingold, J., Mallet, J. 1997. Manic depressive illness and tyrosine hydroxylase gene: linkage heterogeneity and association. *Neurobiological disorders* 4 (5): 337-349.
- Manki, H., Kanba, S., Muramatsu, T., Higuchi, S., Suzuki, E., Matsushita, S., Ono, Y., Chiba, H., Shintani, F., Nakamura, M., Yagi, G., Asai, M. 1996. Dopamine D2, D3 and D4 receptor and transporter gene polymorphisms and mood disorders. *Journal of affective disorders* 40:7-13.
 - Massat, I., Souery, D., Lipp, O., Blairy, S., Papadimitriou, G., Dikeos, D., Ackenheil, M., Fuchshuber, S., Hilger, C., Kaneva, R., Milanova, V., Verheyen, G., Raeymaekers, P., Staner, L., Oruc, L., Jakovljevic, M., Serretti, A., Macciardi, F., Van Broeckhoven, C. Mendlewicz, J. 2000. A European multicenter association study of HTR2A receptor polymorphism in bipolar affective disorder. *American Journal of Medical Genetics*, 96: 136-140
 - McInnis, MG, McMahan, FJ, et al. 1993. Anticipation in bipolar affective disorder. *American Journal of Human Genetics*, 53: 385-390.
 - McInnis, MG., Mac Kinnon, DF, McMahan, FJ., Foroud, T., Edenberg, H.J., Goate, A., Detera-Wadleigh, S., Stine, OC., Rice, J., Blehar, M., Reich, T., Gershon, E., Nurnberger, JI., Simpson, SG., DePaulo, JR. 1998. Evidence for a susceptibility locus for bipolar disorder on chromosome 11p11.5. *American journal of medical genetics*, 81:463.
 - McMahan, FJ., Stine, O.C., Meyers, D., et al. 1995. Patterns of maternal transmission in bipolar affective disorders. *American Journal of Human Genetics*, 56: 1277-1286.
 - Meloni, R, Leboyer, M, et al. 1995. Association of manic-depressive illness with tyrosine hydroxylase microsatellite marker. *The Lancet*, 345.
 - Mendlewicz, J & Fliess, J. 1974. Linkage studies with X-chromosome markers in bipolar (manic-depressive) and unipolar (depressive) illness. *Biological Psychiatry*, 9: 261-294.
 - Mendlewicz, J & Rainer, JD. 1977. Adoption study supporting genetic transmission in manic depressive illness. *Nature*, 368: 327-329.
 - Mendlewicz, J, Leboyer, M, et al. 1991. Absence of linkage between chromosome 11p15 markers and manic-depressive illness in a Belgian pedigree. *Am J Psychiatry*, 148: 1683-1687

Genética de la Depresión

- Mendlewicz, J, Simon, P, et al. 1987. Polymorphic DNA marker on x-chromosome and manic-depression. *The Lancet*, 1: 1230-1232.
- Mendlewicz, J., Fleiss, J. L., Fieve, R. R. 1972. Evidence for X-linkage in the transmission of manic-depressive illness. *JAMA* 222 (13): 1624-7.
- Motulsky, A.G. 1957. Drugs reactions, enzymes and biochemical genetics. *J Am Med Assoc*, 165:835-837.
- Mynett-Johnson, L.A., Murphy, V.E., Claffey, E., Shields, D.C., McKeon, P. 1998. Preliminary evidence of an association between bipolar disorder in females and the catechol-O-methyltransferase gene. *Psychiatric Genetics* 8 (4): 221-225.
- Mundo, E., Walker, M., Tims, H., Macciardi, F., Kennedy, J. L. 2000. Lack of linkage disequilibrium between serotonin transporter protein gene (SLC6A4) and bipolar disorder. *American Journal of Medical Genetics* 96 (3):379-383
- Nöthen, M, Eggermann, K, et al. 1995. Association analysis of the monoamine oxidase A gene in bipolar affective disorder by using family-based internal controls. *American Journal of Human Genetics*, 57: 975-977.
- Nöthen, M., Cichon, S., Rohleder, H., Hemmer, S., Franzek, E., Fritze, J., Albus, M., Borrmann Hassenbach, M., Kreiner, R., Weigelt, B., Minges, J., Lichtermann, D., Maier, W., Craddock, N., Fimmers, R., Höller, T., Baur, M.P., Rietschel, M., Propping, O. 1999. Evaluation of linkage of bipolar affective disorder to chromosome 18 in a sample of 57 German families. *Molecular Psychiatry*, 4 (1): 76-84.
- Nurnberger, JI and Gershon, ES. 1992. Genetics. In: Handbook of affective disorders, pp.131-148. Churchill Livingstone, New York.
- Nylander, P-O, Engström, C, et al. 1994. Anticipation in swedish families with bipolar affective disorder. *Journal of Medical Genetics*, 31: 686-689.
- O'Donovan, MC, Guy, C, et al. 1995. Expanded CAG repeats in schizophrenia and bipolar disorder. *Nature Genetics*, 10: 380-381.
- Ogilvie, A. D., Battersby, S., Bubb, V. J., Fink, G., Harmar, A. J., Goodwin, G. M., Smith, C. A. 1996. Polymorphism in serotonin transporter gene associated with susceptibility to major depression. *Lancet* 347: 731-733.

Depresión: Estado actual

- Ohara, K., Nagai, M., Tsukamoto, T., Tani, K., Suzuki, Y. 1998a. 5-HT_{2A} receptor gene promoter polymorphism--1438G/A and mood disorders. *Neuroreport* 9 (6): 1139-1141.
- Ohara, K., Nagai, M., Tsukamoto, T., Tani, K., Suzuki, Y. 1998b. Functional polymorphism in the serotonin transporter promoter at the SLC6A4 locus and mood disorders. *Biological Psychiatry* 44:550-554.
- Oruc, L., Verheyen, G. R., Furac, I., Jakovljevic, M., Ivezic, S., Raeymaekers, P., Van Broeckhoven, C. 1997. Analysis of the tyrosins hydroxylase and dopamine D₄ receptor genes in a croatian sample of bipolar I and unipolar patients. *American Journal of Medical Genetics* 74:176-178.
- Papadimitriou, GN., Karadima, G., Dikeos, DG., Daskalopoulou, EG., Avramopoulos, D., Stefanis, CN. 2000. GABRB3 gene locus in affective disorders: and association study. *American Journal of Medical Genetics* 96(4):498
- Pekkarinen, P., Terwilliger, J., Bredbacka, P. E., Lonnqvist, J., Peltonen, L. 1995. Evidence of a predisposing locus to bipolar disorder on Xq24-q27.1 in an extended Finnish pedigree. *Genome Research*, 5: 105-113.
- Peralta, V, De Leon, J, Cuesta, M. 1992. Are there more than two syndromes in schizophrenia? a critique of the positive-negative dichotomy. *British Journal of Psychiatry*, 161:335-343.
- Pérez De Castro, I, Torres, P, et al. 1994. No association between dopamine D₄ receptor polymorphism and manic depressive illness. *American Journal of Medical Genetics*, 31: 897-898.
- Perris, C. 1966. A study of bipolar (manic-depressive) and unipolar recurrent depressive psychoses. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 194: 15-44.
- Puertollano, R, Visedo, G, et al. 1995. Lack of association between manic-depressive illness and a highly polymorphic marker from GABRA3 gene. *American Journal of Medical Genetics*, 60: 1-8.
- Radke-Yarrow, M., Nottelmann, E., Matinez, P., Belmont, B. 1992. Young children of affectively ill parents a longitudinal study of psychosocial development. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 31:68-77.

Genética de La Depresión

- Reich, T, Clayton, P, et al. 1969. Family history studies:V. The genetics of mania. *American Journal of Psychiatry*, 125: 1358-1370.
- Rice, J, Reich, T, Andreasen, N., Endicott, J, Van Eerdewegh, M., Fisherman, R., Hirschfield, R.M., Klerman, D.L. 1987. The familiar transmission of bipolar illness. *Archives of General Psychiatry* 44: 441-447.
- Riordan, JR, Rommens, JR et al. 1989. Identification of the cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. *Science*, 245: 1066-1072.
- Risch, N & Merikangas, K. 1996. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science*, 273: 1516-1517.
- Rommens, JR, Iannuzzi, MC et al. 1989. Identification of cytic fibrosis gene: Chromosome walking and jumping. *Science* , 245: 1059-1065.
- Rosa, A., Arias, B., Gutiérrez, B., Pintor, L., Gastó, C., Papiol, S., Fañanás, L. 2000. Genetic variation of genes involved in dopaminergic neurotransmission (COMT and TH) and risk for major depression. *American Journal of Medical Genetics* 96(4):500
- Serretti, A., Lilli, R., Lorenzi, C., Lattuada, E., Smeraldi, E. 2000. Serotonin-2C and serotonin-1A receptor genes are not associated with psychotic symptomatology of mood disorders. *American Journal of Medical Genetics* 96:161-166
- Serretti, A., Macciardi, F., Verga, M., Cusin, C., Pedrini, S., Smeraldi, E. 1998. Tyrosine hydroxylase gene associated with depressive symptomatology in mood disorder. *American Journal of Medical Genetics* 81:127-130.
- Serretti, A., Macciardi, F., Cusin, C., Lattuada, E., Souery, D., Lipp, O., Mahieu, B., Van Broeckhoven, C., Blackwood, D., Muir, W., Aschauer, H. N., Heiden, A. M., Ackenheil, M., Fuchshuber, S., Raeymaekers, P., Verheyen, G., Kaneva, R., Jablensky, A., Papadimitriou, G. N., Dikeos, D. G., Stefanis, C. N., Smeraldi, E., Mendlewicz, J. 2000. Linkage of mood disorders with D2, D3 and TH genes: a multicenter study. *Journal of affective disorders* 58: 51-61.
- Shaikh, S, Ball, D, et al. 1993. The dopamine D3 receptor gene: no association with bipolar affective disorder. *American Journal of Medical Genetics*, 30: 308-309.

Depresión: Estado actual

- Sham, PC, Jones, P, et al. 1994. Age at onset, sex, and familial psychiatric morbidity in schizophrenia. Camberwell collaborative psychosis study. **British Journal of Psychiatry**, 165: 466-473.
- Smyth, C, Kalsi, G, et al. 1996. Further tests for linkage of bipolar affective disorder to the tyrosine hydroxylase gene locus on chromosome 11p15 in a new series of multiplex British affective disorder pedigrees. **American Journal of Psychiatry**, 153: 271-274.
- Stine, O. C., Xu, J., Koskela, R., McMahon, F. J., Gschwend, M., Fiddle, C., Clark, C. D., McInnis, M. G., Simpson, S. G., Breschel, T. S., et al. 1995. Evidence for linkage of bipolar disorder to chromosome 18 with a parent-of-origin effect. **American Journal of Human Genetics**, 56: 1384-1394.
- Stober, G., Jatzke, S., Heils, A., Jungkunz, G., Knapp, M., Mossner, R., Riederer, P., Lesch, K. P. 1998. Insertion/deletion variant (-141C Ins/Del) in the 5' regulatory region of the dopamine D2 receptor gene: lack of association with schizophrenia and bipolar affective disorder. **J Neural Transm**, 105: 101-9
- Straub, RE, Lehner, T, et al. 1994. A possible vulnerability locus for bipolar affective disorder on chromosome 21q22.3. **Nature Genetics**, 8: 291-296.
- Sullivan, T.F., Neale, M.C., Kendler, K.S. 2000. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. **American Journal of Psychiatry** 157: 1552-1562.
- Taylor, M.A., Abrams, R., Hayman, M.A. 1980. The classification of affective disorders: a reassessment of the bipolar-unipolar dichotomy. **Journal of affective disorders** 2: 95-109.
- Todd, RD & O'Malley, KL. 1989. Population frequencies of tyrosine hydroxylase restriction fragment length polymorphism in bipolar affective disorder. **Biological Psychiatry**, 25: 626-630.
- Tsuang, MT & Faraone, SV. 1990. The genetics of mood disorders. Johns Hopkins, Baltimore.
- Vallada, H.P., Vasques, L., Curtis, D., Zatz, M., Kirov, G., Lauriano, V., Gentil, V., Murray, R.M., McGuffin, P., Owen, M., Gill, M., Craddock, N., Collier, D.A. 1998. Linkage analysis between bipolar affective disorder and markers on chromosome X. **Psychiatric Genetics**, 8 (3): 183-186.

Genética de la Depresión

- Valles, V., Van Os, J., Guillamat, R., Gutierrez, B., Campillo, M., Gento, P., Fananas, L. 2000. Increased morbid risk for schizophrenia in families of in-patients with bipolar illness. *Schizophrenia Research* 42 (2):83-90
- Vallès, V, Guillamat, R, Fañanás, L.; Gutiérrez, B; Campillo, M.; Van Os, J. 1996. Increased morbid risk of schizophrenia in relatives of patients with severe bipolar disorder. *European Psychiatry*, 11: 306-307.
- Vogel, F. 1959. Moderne probleme der Humangenetik. *Ergebn Inn Med Kinderheilk*, 12:52-125.
- Vogt, I. R., Shimron-Abarbanell, D., Neidt, H., Erdmann, J., Cichon, S., Schulze, T. G., Muller, D. J., Maier, W., Albus, M., Borrmann-Hassenbach, M., Knapp, M., Rietschel, M., Propping, P., Nothen, M. M. 2000. Investigation of the human serotonin 6 [5-HT6] receptor gene in bipolar affective disorder and schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics*, 96: 217-21.
- Von Knorring, A.L., Cloninger, C.R., Bohman, M., Sigvardsson, S. 1983. An adoption study of depressive disorders and substance abuse. *Archives of General Psychiatry*, 40: 943-950
- Wender, H, Kety, SS, et al. 1986. Psychiatric disorders in the biological and adoptive families of adopted individuals with affective disorders. *Archives of General Psychiatry*, 43: 923-929.
- Weissman, M.M., Gershon, E.S., Kidd, K.K., Prusoff, B.A., Leckman, J.F., Dibble, E., Hamovit, J., Thompson, W.D., Pauls, D.L., Guroff, J.J. 1984. Psychiatric disorders in the relatives of probands with affective disorder. *Archives of General Psychiatry* 41:13-21.
- Wilson, A.F., Tanna, V.L., Winokur, G., Elston, R.C., Hill, E. M. 1989. Linkage analysis of depression spectrum disease. *Biological Psychiatry* 26 (2): 163-175.
- Winokur, G. 1997. All roads lead to depression: clinically homogeneous, etiologically heterogenous. *Journal of affective disorders* 45: 97-108.
- Zanardi, R., Benedetti, F., Di Bella, D., Catalano, M., Smeraldi, E. 2000. Efficacy of paroxetine in depression is influenced by a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene. *Journal of clinical psychopharmacology* 20:105-107

2. FARMACOGENÉTICA

Un gran número de estudios han puesto de manifiesto que la respuesta al tratamiento farmacológico está influida por factores genéticos individuales, y que este componente genético es altamente complejo, poligénico y epistático (Lesch y cols, 2002). Sin embargo, hay que recordar que en la respuesta clínica al tratamiento, además de dicho componente genético, deben considerarse otros factores que también juegan un importante papel a la hora de modular y predecir la respuesta a un tratamiento farmacológico, como por ejemplo un diagnóstico acertado, el tipo de personalidad premórbida del pacientes, el soporte social y personal, la alianza que se establece con el psiquiatra, el posible efecto placebo, pero fundamentalmente y como ha sido defendido por algunos autores el ajuste premórbido y el ajuste familiar del pacientes (Vallejo y cols, 1991; Rey y cols, 2000).

El principal objetivo de la farmacogenética será, por tanto, identificar y categorizar los factores genéticos que se encuentran en la base de las diferencias existentes entre individuos en cuanto a la respuesta clínica al tratamiento y aplicar estas observaciones tanto al conocimiento de la enfermedad como al de su tratamiento.

La farmacogenética podría, por tanto, ayudar a detectar a aquellos pacientes que, *a priori* podrían responder adecuadamente a un determinado tratamiento y/o, desde la perspectiva inversa, presentar claros efectos secundarios y ausencia de respuesta clínica. Según algunos autores, como Lindpaintner (2003), este objetivo no debería estar únicamente centrado en encontrar "el fármaco adecuado para un paciente determinado" sino que debería evolucionar hacia un objetivo más general basado en encontrar "el fármaco adecuado para un subtipo de enfermedad concreta – fenotipo-".

Las primeras aproximaciones al concepto de la farmacogenética vinieron de la mano de Archibald Garrod, a principios del siglo pasado. Garrod sugirió por primera vez que los factores genéticos podrían ser los causantes de las transformaciones químicas de distintas drogas en los humanos (Garrod, 1902, 1909). Posteriormente, en 1957, Motulsky observó que defectos heredados del metabolismo podrían encontrarse en la base de las diferencias inter-individuales existentes con respecto a la eficacia farmacológica y los efectos secundarios de los tratamientos farmacológicos (Motulsky, 1957). Sin embargo, no fue hasta 1959 cuando Vogel acuñó por primera vez el término de "farmacogenética", definiéndola como "la variación hereditaria de importancia clínica en la respuesta a fármacos" (Vogel, 1959). En 1962 apareció el primer texto que, específicamente, trataba de este tema "Pharmacogenetics – Hereditary and the response to drugs" y que fue publicado por Werner Kalow (Kalow, 1962).

Actualmente y, en parte debido al proyecto Genoma Humano, dos términos coexisten y son utilizados casi indistintamente aunque, en realidad, existan diferencias sutiles entre ellos: farmacogenómica y farmacogenética.

En general, el término farmacogenómica hace referencia a la determinación y el análisis del genoma (ADN) y sus productos (ARN y proteínas) y su relación con la respuesta farmacológica; la farmacogenética sería, por otro lado, el estudio de la variabilidad existente en la respuesta a un fármaco en diferentes poblaciones atribuida, esencialmente, a factores hereditarios (Roses, 2001). Por tanto, será de gran utilidad mantener la distinción entre ambos conceptos puesto que, como hemos visto, los puntos de partida y los resultados que se obtienen difieren sustancialmente entre si.

Dentro de la farmacología existen dos campos básicos de estudio: la farmacocinética y la farmacodinamia. La farmacocinética estudia la variabilidad que existe en los procesos de distribución del fármaco y/o sus metabolitos hasta la

molécula diana lo que, habitualmente, incluye la absorción, la distribución, el metabolismo y la eliminación del fármaco. La farmacodinamia se centra en el estudio de los mecanismos de acción del fármaco en la molécula diana.

Hasta hace relativamente poco tiempo, se consideraba que las diferencias más importante existentes en la respuesta farmacológica eran debidas a la variabilidad farmacocinética. Sin embargo, en la actualidad, parece que la variabilidad farmacodinámica en humanos es mayor, reproducible, y usualmente, más pronunciada que la variabilidad farmacocinética. La farmacogenética debe considerar, por tanto, aquella variación genética interindividual que pueda explicar tanto el perfil farmacocinético como farmacodinámico de un individuo frente un determinado fármaco.

Muchas de las dianas terapéuticas (receptores, transportadores, enzimas), que contribuyen a la farmacodinamia de la respuesta farmacológica, no solamente son claves en la regulación de los sistemas de neurotransmisores sino que también, directa o indirectamente, modifican el desarrollo y la plasticidad de las redes neuronales involucradas en el efecto farmacológico. Tanto la variación genética estructural (que es rara) como la de expresión (más común) pueden influir, por tanto, en la disponibilidad del producto génico y en su función.

En consecuencia, la respuesta clínica a un fármaco dependerá de la expresión funcional y estructural de un número altamente variable de genes tanto desde el punto de vista farmacocinético como farmacodinámico, sin olvidar en ningún momento el importante papel que jugaría el factor ambiental en la modulación de dicha respuesta. El hecho de disponer de un perfil genético del individuo de manera previa al tratamiento nos permitiría, por un lado, administrar de una manera más rápida y eficaz el tratamiento adecuado, y por otro, evitar incluir en la terapia fármacos

potencialmente tóxicos para el paciente. La consecuencia directa será que la enfermedad será manejada de una manera más eficaz y económica, evitando, en muchos casos un sufrimiento innecesario al paciente (Housman and Ledley, 1998).

Desafortunadamente, la mayoría de estudios farmacogenéticos llevados a cabo hasta el momento, han sido realizados de manera retrospectiva, por lo que muchos de los datos obtenidos derivan de observaciones subjetivas del estado clínico del paciente y no de definiciones sistemáticas de la respuesta clínica al fármaco (Pickar and Rubinow, 2001). Por tanto, la estrategia farmacogenética debería incluir la utilización de estudios de asociación genética basados en cohortes seguidas prospectivamente, con el propósito específico de identificar genes que influyen en la respuesta clínica al tratamiento farmacológico (Catalano, 1999).

Para diseñar un estudio farmacogenético válido son necesarios dos elementos claves: una definición explícita y consistente del fenotipo de respuesta farmacológica y un conocimiento de los genes candidatos con relevancia en el mecanismo de acción del fármaco (Pickar and Rubinow, 2001). Para estudiar de manera completa las hipótesis farmacogenéticas y establecer los fundamentos para la aplicación clínica, los ensayos clínicos deben ser diseñados con hipótesis realizadas a priori (es decir, con la intención de encontrar un hallazgo farmacogenético). Asimismo, las poblaciones que se utilicen en el estudio deberán estar estratificadas en función de las variantes genéticas que se vayan a analizar y ser suficientemente amplias y representativas de una población humana homogénea.

En conclusión, el futuro de la farmacogenética tiene como objetivo principal el descubrimiento de nuevas variantes genéticas que afecten a la acción del fármaco y que, por tanto, conduzcan al desarrollo de nuevos procedimientos diagnósticos y terapéuticos que nos permitirán prescribir un fármaco a un determinado paciente de

una manera más selectiva, consiguiendo, de esta manera, un tratamiento mucho más eficaz y seguro. Un perfil genético individualizado nos proporcionará la información necesaria para prescribir, en un plazo de tiempo menor, terapias farmacológicas más efectivas y posiblemente, una reducción de los efectos secundarios no deseados. Sin embargo, no debemos olvidar que la farmacogenética proporcionará una información de tipo probabilística y relativa, en ningún momento absoluta o determinista. Seguramente, ofrecerá una gran ayuda, pero en ningún caso proporcionará soluciones simples a los problemas que plantea la farmacogenética y la respuesta a fármacos (Lindpaintner, 2003).

En cualquier caso, para que la estrategia farmacogenética pueda llevarse a cabo y tenga éxito será necesaria una colaboración intensa y multidisciplinar; i) desde la clínica, puesto que allí existen los profesionales que diagnosticarán a los pacientes de manera correcta y exacta (sin los cuales la investigación, en muchos caso, no sería posible), ii) desde la industria, donde se podrán localizar las bases de datos de pacientes y las diferentes variables relacionadas con la respuesta clínica, iii) desde la investigación, tanto a nivel de industria como académica, donde se identificarán por un lado las vías y los genes candidatos, y por otro, la tecnología necesaria para llevar a cabo genotipados a gran escala y el posterior análisis de todos los datos obtenidos y finalmente, y no por ello menos importante, iv) desde los pacientes, que con su colaboración desinteresada hacen que la ciencia pueda avanzar.

2.1. Farmacocinética de los fármacos psicotropos: antidepresivos y antipsicóticos

Entre los muchos factores que influyen en la respuesta a fármacos, la función hepática y el metabolismo son factores que juegan un papel determinante para prácticamente toda la medicación que se prescribe en psiquiatría (Bertilsson and Dahl, 1996; Brosen, 1996; Cohen and De Vane, 1996).

La mayoría de los fármacos psicotropos son de naturaleza lipofílica, por lo que habitualmente sufren un proceso de biotransformación oxidativa para transformarse en metabolitos más solubles en agua, facilitándose, por tanto, su disponibilidad en el organismo (Wilkinson y cols, 1992). El metabolismo está dividido en dos grandes vías, las reacciones de fase I (oxidación, reducción e hidrólisis) y las reacciones de fase II o reacciones de conjugación (acetilación, glucoronidaciones, sulfataciones o metilaciones).

Las reacciones de fase I están mediadas en humanos, principalmente, por los enzimas del citocromo P-450 (CYP). Este tipo de enzimas son del tipo oxidativo, y su función principal es oxidar tanto compuestos endógenos (esteroides y neuropéptidos) como exógenos (alimentos, fármacos, tabaco y cualquier otra molécula orgánica que sea ingerida). Son enzimas de tipo multifuncional, es decir, cada enzima es capaz de metabolizar diferentes compuestos.

Se han descrito 12 familias del citocromo P-450, de las cuales, cuatro de ellas (CYP1 – CYP4) están directamente involucradas en el metabolismo (Bertilsson and Dahl, 1996).

De estas familias, seis enzimas (1A2, 3A4, 2C9, 2C19, 2D6 y 2E1) son responsables de más del 90% de la oxidación de los fármacos en humanos, siendo los enzimas CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4, los responsables de la

metabolización de prácticamente todos los antidepresivos y antipsicóticos utilizados actualmente en la práctica clínica (ver Tabla 18).

Tabla 18. Lista de los fármacos antidepresivos y antipsicóticos que son metabolizados por uno o varios de los enzimas más importantes del sistema P450

	CYP1A2	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
Antidepresivos				
	Amitriptilina	Amitriptilina	Amitriptilina	Amitriptilina
	Clomipramina	Citalopram	Clomipramina	Clomipramina
	Fluoxamina	Clomipramina	Desipramina	Imipramina
	Imipramina	Imipramina	Fluoxamina	Venlafaxina
		Moclobemida	Imipramina	
			Mianserina	
			Nortriptilina	
			Paroxetina	
			Venlafaxina	
Antipsicóticos				
	Clozapina	Clozapina	Clozapina	Clozapina
	Olanzapina		Haloperidol	Risperidona
			Olanzapina	Quetiapina
			Perfenazina	
			Remoxiprida	
			Risperidona	
			Sertindol	

Tabla adaptada de Kerwin & Arranz (Kerwin and Arranz, 2002)

La actividad de estos enzimas está distribuida de manera polimórfica en las poblaciones (ver tabla 19), especialmente para el CYP2D6, CYP2C9 y CYP2C19. La presencia de un determinado número de variantes alélicas implicará diferentes grados de funcionalidad en estos enzimas, y por tanto, de perfil farmacocinético de sus portadores (Dahl, 2002).

Clínicamente, el hecho de administrar dosis estándar de fármacos que son metabolizados de manera primaria por este tipo de enzimas altamente polimórficos implica que se produzcan efectos secundarios adversos, efectos terapéuticos prolongados o bien falta de efecto (debido a una actividad metabolizadora del enzima aumentada o disminuida según los casos) (Linder and Valdes, 1999).

El fenotipo farmacocinético es la característica observable de la actividad enzimática del paciente, y según este fenotipo los pacientes pueden ser clasificados como i) *metabolizadores pobres* ("Poor metabolisers" –PM-) cuando el individuo presenta un enzima inactivo o disfuncional (Norton, 2001), ii) *metabolizadores intermedios* ("Intermediate metabolisers" –IM-) cuando en el paciente existe además de una disminución en la actividad enzimática, un descenso en el metabolismo del fármaco (Ingelman-Sundberg y cols, 1999), 1999), iii) *metabolizadores extensivos* (Extensive metabolisers –EM-) cuando la actividad del enzima es normal (Bursen, 1999), y, finalmente, iv) *metabolizadores ultrarrápidos* (Ultra extensive metabolisers –UEM-) cuando el individuo presenta una alta expresión del enzima, generalmente debido a duplicaciones en el gen que provocan que el número de moléculas enzimáticas expresadas sea superior a lo normal (Norton, 2001). Las dosis habituales de fármaco en estos pacientes puede resultar en una eficacia reducida o nula (o toxicidad si hablamos de pro-drogas) debido a su metabolismo rápido (Norton, 2001).

Tabla 19. Prevalencia de los fenotipos metabolizador pobre (PM) y metabolizador ultrarrápido (UEM) para varios Citocromos P450 según raza/etnicidad.

(Tabla adaptada de Rogers y cols, 2002)

	Caucásicos		Asiáticos		Afro-caribeños		Etiopes/Arabia Saudita	
	PM	UEM	PM	UEM	PM	UEM	PM	UEM
	Prevalencia (%)							
CYP2D6	5-10	1-10	1	0-2	0-20	2	1.8-2*	10-29
CYP2C9	0.2-1	NI	2-3	ND	ND	ND	ND	ND
CYP2C19	2-4	ND	10-25	ND	1-5	ND	2*	ND

NI: No identificados ;ND: No determinados;* determinados en población de Arabia Saudita únicamente

La mayoría de fármacos antidepresivos y antipsicóticos son metabolizados principalmente por cuatro enzimas pertenecientes a la familia del Citocromo P450.

Todos ellos se encuentran recogidos en la Tabla 8.1. Como puede observarse en dicha Tabla, uno de los enzimas metabolizadores más importante, si tenemos en cuenta el número de fármacos diferentes que metaboliza, es el CYP2D6. El gen de este enzima es altamente polimórfico, aunque únicamente dos polimorfismos (CYP2D6A y CYP2D6B) y una deleción son responsables del 95% de los PM descritos en población caucásica. La frecuencia de PM en caucásicos frente a la frecuencia en asiáticos es bastante elevada (5-10% *versus* 1%)(ver Tabla 8.2) (Lin y cols, 1996; Caraco, 1998). Estos datos son de importancia a la hora de considerar el tratamiento psiquiátrico en pacientes con diferente etnicidad, puesto que muchos antipsicóticos y antidepresivos son metabolizados por el CYP2D6 (Linder y cols, 1997). Asimismo, estas variantes genéticas deberían tenerse en cuenta a la hora de considerar la respuesta clínica al tratamiento en estudios farmacogenéticos basados en genes de interés en la farmacodinamia del fármaco.

Aunque la farmacocinética ha sido y es un campo altamente estudiado en otras especialidades, los estudios realizados con antidepresivos y antipsicóticos se encuentran, todavía, en fases muy primarias de desarrollo siendo el futuro de este campo altamente interesante.

2.2 Farmacodinamia de los fármacos psicotropos: antidepresivos y antipsicóticos

Los mecanismos farmacodinámicos implicados en la acción de los fármacos antidepresivos y antipsicóticos se han convertido en un tema prioritario dentro de la investigación en la farmacogenética actual (Catalano, 1999; Pickar and Rubinow, 2001).

En los últimos años algunos estudios han puesto de manifiesto la relación entre ciertas variantes de genes implicados en los mecanismos de acción de algunos psicofármacos, y la respuesta clínica del paciente a dichos tratamientos. Los primeros estudios controlados de farmacogenética en psiquiatría se desarrollaron a finales de los 90 sobre muestras de pacientes con esquizofrenia tratados con el antipsicótico clozapina. En estos primeros estudios Arranz y cols (Arranz y cols, 1996) pusieron de manifiesto la relación existente entre una variante del gen 5-HT_{2A} (C102) y la mala respuesta clínica al tratamiento con dicho antipsicótico. Estudios posteriores, incluyendo el análisis de variantes genéticas de genes implicados en la síntesis de otras moléculas diana para este fármaco (dopaminérgicos, serotoninérgicos, alfa-adrenérgicos e histamínicos), han confirmado la utilidad de la farmacogenética en la predicción de la respuesta clínica al tratamiento para este antipsicótico (Arranz y cols, 2000).

De manera similar, en los últimos años se han llevado a cabo los primeros estudios de farmacogenética en pacientes afectados por depresión mayor.

Los ISRS constituyen, hoy en día, fármacos de primera elección en el tratamiento de la depresión mayor ya que son altamente efectivos y además presentan un perfil de efectos secundarios más atenuado que el de los antidepresivos tricíclicos. Estos primeros estudios farmacogenéticos se han basado, por tanto, en la respuesta clínica a antidepresivos inhibidores de la recaptación de serotonina (ISRS) y en la variabilidad genética asociada al gen de su proteína diana, el del transportador de serotonina (SLC6A4) (ver Serretti y cols, 2002 y Mancama and Kerwin, 2003 para revisión).

Tabla 20. Estudios farmacogenéticos desarrollados recientemente en trastornos afectivos (Depresión Mayor –DM- y Trastorno bipolar –BP-) basados en la variabilidad genética asociada al gen del recaptador de serotonina (SERT) y la respuesta clínica, a corto y largo plazo, al tratamiento con antidepresivos inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRSs).

	Muestra	Fármaco	Tiempo	Resultados
Smeraldi y cols (1998)	30 BP, 69 DM	Fluvoxamina	6 semanas	Mayor probabilidad de respuesta en individuos portadores del alelo l (p=0.017)
Zanardi y cols (2000)	46 DM, 18 BP	Paroxetina	6 semanas	Asociación del alelo s con una respuesta más lenta y menos favorable (p<0.001)
Pollock y cols (2000)	95 DM "late-life"	Paroxetina	12 semanas	Asociación del alelo s con una respuesta más lenta (p=0.028)
Kim y cols (2000)	120 DM Corea	Fluoxetina y paroxetina	6 semanas	Asociación del genotipo s/s con una mejor respuesta (p=0.007)
Zanardi y cols (2001)	47 BP, 108 DM	Fluvoxamina	6 semanas	Mayor probabilidad de respuesta en individuos portadores del alelo l (todas las muestras, p=0.029; sin pindolol, p=0.002)
Rausch y cols (2002)	51 DM	Fluoxetina	12 semanas	Asociación del genotipo s/s con peor curso del episodio depresivo. Los portadores del alelo l, respondían mejor a placebo
Yu et al (2002)	121 MD China	Fluoxetina	4 semanas	Asociación del alelo s con una peor respuesta a las 4 semanas.
Arias y cols (in press)	131 DM	Citalopram	12 semanas	Asociación del genotipo s/s con la falta de remisión a 12 semanas del episodio depresivo (p=0.006)

No hay que olvidar, sin embargo, que los ISRS actúan selectivamente sobre el transportador de serotonina (SERT) bloqueando el mecanismo de recaptación de este neurotransmisor del espacio intersináptico. Sin embargo, este bloqueo del SERT y el consecuente aumento de la concentración de serotonina intersináptica, no se traduce en una respuesta clínica inmediata. Según las hipótesis actuales, y tal y como se ha explicado en el apartado anterior de tratamiento, el aumento de serotonina en el espacio intersináptico activaría los receptores somatodendríticos 5-HT_{1A}, provocándose una inhibición de la neurotransmisión y una reducción de la liberación de serotonina en el cerebro (Artigas y cols, 1996). La administración a

largo plazo del antidepresivo induciría la desensibilización de los autoreceptores 5-HT_{1A}, lo cual aumentaría, de manera gradual la neurotransmisión serotoninérgica provocándose la respuesta farmacológica en los pacientes, unas tres o cuatro semanas después de iniciado el tratamiento con ISRS (Blier y cols, 1987; Blier and de Montigny, 1998).

La variación genética del gen HTR1A y su posible papel en la respuesta clínica al tratamiento con citalopram, ha sido considerada entre los objetivos de la presente Tesis. La inexistencia de estudios previos basados en el ISRS citalopram, así como la falta de estudios valorando el efecto aditivo de ambos genes, HTR1A y SERT, han justificado el diseño del estudio farmacogenético que constituye la segunda parte de la presente memoria.

IV.OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Estudiar la variación existente en genes candidatos implicados en la neurotransmisión serotoninérgica como factor de riesgo en la depresión mayor y como factor relacionado con aspectos del fenotipo clínico de la depresión mayor y de la respuesta clínica al tratamiento con antidepresivos selectivos de la recaptación de serotonina.

2. OBJETIVOS CONCRETOS

1. *Estudiar la variabilidad genética asociada al receptor 5-HT_{2A} como posible factor de riesgo para la depresión mayor e identificar asociaciones con variables clínicas de gravedad en la enfermedad.*

El sistema serotoninérgico ha sido implicado en numerosos procesos fisiológicos como el sueño, el apetito, la termorregulación, la percepción de dolor, la secreción hormonal o la conducta sexual, todos ellos procesos biológicos que se encuentran alterados en la depresión mayor.

En concreto, el receptor de serotonina 5-HT_{2A} ha sido relacionado con diferentes variables clínicas de gravedad dentro de la depresión tales como el comportamiento suicida o la estacionalidad de los episodios depresivos.

El objetivo concreto fue investigar el rol del polimorfismo 102T/C del gen HTR2A en el riesgo para la depresión y/o su cuadro clínico, siguiendo un diseño clásico de asociación genética tipo caso-control. En este diseño se utilizó una muestra de pacientes diagnosticados de depresión mayor según criterios DSM-IV y una

muestra de población control, de un origen socio-demográfico equivalente a la muestra de pacientes.

2. *Analizar los polimorfismos -19G/C y 12 A/T, localizados en el gen del receptor de serotonina 5-HT_{5A}, como posibles factores de riesgo para la depresión.*

Estudios previos realizados en muestras de pacientes diagnosticados de depresión mayor, trastorno bipolar y esquizofrenia, todos ellos de origen británico, pusieron de manifiesto el posible rol que este receptor podría jugar en la etiología de estos trastornos (Birkett y cols, 2000).

El objetivo principal de este trabajo fue doble, en primer lugar intentar replicar y confirmar estos resultados en muestras de origen español formadas por pacientes con depresión mayor, pacientes con trastorno bipolar y una muestra control; para llevar a cabo este objetivo se trabajó siguiendo un diseño de asociación genética, en el que se analizaron los polimorfismos -19G/C (región 5' no codificante) y 12A/T (exón 1) localizados en el gen HTR5A en la muestra de pacientes y en la muestra control.

En segundo lugar, establecer por primera vez la distribución de frecuencias haplotípicas de ambos polimorfismos tanto en las muestras de pacientes como en los controles con el fin de aumentar el poder y confirmar o detectar la posible asociación de este gen con la enfermedad.

-
3. *Explorar la variabilidad genética asociada al gen del receptor de serotonina 5-HT_{1A} y analizar la implicación de dicha variabilidad en el riesgo para la depresión mayor, y para aspectos clínicos de gravedad en la enfermedad.*

La implicación del receptor de serotonina 5-HT_{1A} en el control de la liberación de serotonina al espacio intersináptico, y en consecuencia, en la respuesta al tratamiento farmacológico con antidepresivos, han hecho del gen HTR1A un candidato de máximo interés en los estudios en depresión mayor.

Entre los objetivos de este apartado se contempló el análisis de tres polimorfismos estructurales (tipo SNP) localizados en el exón 1 de este gen (Ile28Val, Asp272Gly y Pro16Leu), así como una variante altamente polimórfica localizada en la zona promotora del mismo (C-1018G) y la descripción de sus frecuencias alélicas y genotípicas en población española. Con respecto al último polimorfismo (C-1018G) se pretendió también optimizar la metodología utilizada previamente por los autores que lo describieron (Wu et al., 1998).

Un segundo objetivo fue detectar la posible implicación de las variantes descritas del gen HTR1A en el origen de la depresión mayor, así como su relación con alguna de las variables clínicas de gravedad. Para tal fin fueron analizados, en el contexto de un diseño caso-control, todos los polimorfismos mencionados en una muestra de pacientes con depresión mayor y en una muestra control de individuos sanos de un origen poblacional y sociodemográfico equivalente al del grupo de pacientes.

4. *Estudiar el polimorfismo 5-HTTLPR del gen del transportador de serotonina como predictor de la respuesta clínica y de la remisión de un episodio depresivo mayor tratado con un ISRS (citalopram).*

Los ISRS han sido desarrollados como fármacos con una alta selectividad para su molécula diana, el transportador de serotonina. Estudios recientes han puesto de manifiesto la importancia de la variabilidad genética de la zona promotora del gen del transportador de serotonina (5-HTTLPR, alelo S) en la respuesta clínica a corto plazo a ISRSs como la fluvoxamina, fluoxetina o paroxetina. Sin embargo, no se conocía por un lado, si esta misma asociación existía respecto al ISRS más selectivo del mercado, el citalopram, y tampoco cual era la implicación de dicho alelo S en una respuesta clínica a largo plazo.

El objetivo concreto fue analizar dicho polimorfismo 5-HTTLPR en una cohorte de pacientes con un episodio depresivo mayor en fase activa, tratados con citalopram y seguido longitudinalmente durante 12 semanas. Este estudio pretendió establecer tanto la relación entre dicha variabilidad y respuesta a corto plazo al citalopram, como la capacidad predictiva del genotipo para el polimorfismo 5-HTTLPR en la remisión de un episodio depresivo a doce semanas.

-
5. *Estudiar el efecto de variantes polimórficas asociadas al gen HTR1A, así como el posible efecto combinado de los genes HTR1A y SLC6A4 en la respuesta clínica y en el curso de un episodio depresivo mayor seguido durante 12 semanas y tratado con inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (citalopram).*

Los ISRS ejercen su efecto antidepresivo inhibiendo el recaptador de serotonina, sin embargo este efecto no es inmediato y habitualmente es necesario un tiempo de latencia, que varía entre 4-6 semanas, para que el efecto terapéutico sea evidente. Este periodo parece estar directamente relacionado con la acción inhibitoria que realiza el receptor 5-HT_{1A} sobre la liberación de serotonina. Por esta razón, y pese a que este receptor no es una diana directa de los SSRI, diversos estudios han puesto de manifiesto su implicación en la modulación en la respuesta clínica a antidepresivos.

El objetivo principal de este estudio fue analizar el polimorfismo -1018G/C situado en el gen HTR1A en una cohorte de pacientes con un episodio depresivo mayor en fase activa, tratados con citalopram y seguido longitudinalmente durante 12 semanas, con el fin de estimar tanto el efecto individual sobre la respuesta clínica, remisión del episodio a la duodécima semana y evolución del episodio depresivo, como dichos efectos desde la estimación de un efecto combinado con los alelos del gen SLC6A4 que codifica para transportador de serotonina.

V.MUESTRA Y MÉTODO

1. MUESTRA

1.1 Pacientes

Los pacientes incluidos en este trabajo provienen en su totalidad del Centre de Salut Mental (CSM) Esquerra de l'Eixample, dependiente del Hospital Clínico de Barcelona. Este Centro atiende las necesidades en salud mental de una población de 200.000 habitantes del área metropolitana de Barcelona. En este centro se ha trabajado en estrecha colaboración con un equipo de psiquiatras investigadores, el Dr. Cristóbal Gastó, la Dra. Rosa Catalán y el Dr. Luis Pintor, que han trabajado en la caracterización clínica y demográfica de la muestra de pacientes con depresión mayor utilizada en la presente Tesis.

Se excluyeron del estudio aquellos individuos que habían sufrido o sufrían alguna enfermedad no psiquiátrica grave, una enfermedad genética conocida o bien consumo de tóxicos.

En base a los criterios DSM-IV, previamente especificados, se incluyeron en los estudios de asociación genética (a y b) y en el estudio de farmacogenética (c):

- a) Pacientes diagnosticados con anterioridad de un trastorno depresivo mayor, y que en el momento del estudio se encontraban en remisión. Todos ellos fueron identificados a partir de la revisión de las historias clínicas existentes en el CSM y citados para la entrevista personal antes de la inclusión.
- b) Pacientes en fase activa, es decir, pacientes que presentaban en el momento del estudio un episodio depresivo mayor y que cumplían criterios diagnósticos de trastorno depresivo mayor según criterios DSM-IV.

c) Pacientes en fase activa tratados específicamente con citalopram que fueron incluidos en el protocolo farmacogenético (ver diseño en el apartado correspondiente).

La versión española de la Entrevista Clínica Estructurada para DSM-III-R (SCID, (Spitzer RL, 1990)) fue utilizada por los psiquiatras para la aplicación de los criterios diagnósticos DSM-IV.

Una vez confirmado el diagnóstico, los pacientes y sus familiares fueron informados debidamente del tipo y características del estudio, siendo invitados a participar voluntariamente en él. Aquellos que accedieron a ser incluidos en el estudio firmaron una carta de consentimiento informado que garantizaba la privacidad de los datos recogidos y su utilización en estudios científicos sobre la enfermedad.

Posteriormente se recogieron las variables socio-demográficas de interés como la edad, el sexo, el lugar de nacimiento y la procedencia geográfica de los padres y de los cuatro abuelos del paciente.

Asimismo, se recogió información clínica muy detallada de cada paciente. Esta información nos permitió realizar posteriormente una aproximación a la heterogeneidad de la muestra en función de posibles subgrupos etiológica y biológicamente más homogéneos, o con una evolución más grave de la enfermedad. Las variables clínicas incluidas en el estudio para toda la muestra de pacientes fueron las siguientes:

Edad de inicio: se definió como aquella en la que el paciente presentó el primer episodio depresivo grave.

Tiempo de evolución: tiempo transcurrido desde la aparición del primer episodio depresivo grave hasta la inclusión del paciente en el estudio.

Número de episodios: esta variable definía cuántas veces el paciente había sufrido fases activas a lo largo del tiempo de evolución de su enfermedad. Un mayor número de episodios en un menor periodo de tiempo se relaciona con la gravedad de la enfermedad.

Número de ingresos es, también, una variable clínica a tener en cuenta, ya que al igual que la anterior nos da información de los episodios sufridos por el paciente y de la evolución de la enfermedad.

Severidad del episodio: evaluada con la Escala Hamilton (HDRS) de 17 ítems para depresión (Hamilton, 1970). Esta Escala, que puntúa entre un rango de 0 a 30, explora diferentes aspectos del estado de ánimo, dándonos una valoración cuantitativa de la gravedad sintomatológica del episodio depresivo. Cuanto más alto puntúe el paciente en la entrevista más grave es, clínicamente, el episodio depresivo.

Presencia de síntomas melancólicos: Se diagnosticó según criterios DSM-IV (Cuadro 3). Los síntomas melancólicos se consideran como un agravante de la enfermedad, y el grupo de pacientes que los presenta se consideran un subgrupo más homogéneo tanto genética como etiológicamente dentro de la depresión.

Comportamiento suicida: se estudió revisando las historias clínicas y registrando los intentos de suicidio de cada paciente. Para recoger la información presente y retrospectiva sobre la ideación suicida e intentos de suicidio, se pasó al paciente

y sus familiares un cuestionario corto basado en la entrevista SADS (Endicott and Spitzer, 1987).

Patrón estacional: se consideró que la enfermedad cursaba con patrón estacional cuando se podía establecer una relación regular y temporal entre el inicio y la remisión de al menos dos episodios depresivos.

Síntomas psicóticos: se consideró que un paciente presentaba este tipo de síntomas si durante la fase activa de la enfermedad había sufrido delirios y/o alucinaciones.

Historia familiar: Se investigó la presencia de antecedentes psiquiátricos de esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo, trastorno bipolar o trastorno depresivo mayor entre los familiares de primer grado de cada paciente. Esta investigación se llevó a cabo mediante la aplicación de una entrevista estructurada FH-RDC (Endicott y cols, 1975), al menos, a dos familiares sanos de primer grado de cada uno de los pacientes. Estos familiares actuaron como informantes sobre la salud mental del resto de familiares de primer grado.

Variables clínicas recogidas exclusivamente para el estudio farmacogénico a 12 semanas:

En el momento de su inclusión en el estudio, todos los pacientes se encontraban en una fase activa del episodio depresivo.

Tratamiento: todos los pacientes fueron tratados con citalopram, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS). Los pacientes recibieron una dosis inicial entre 20-40 mg/día, según protocolos establecidos. Esta dosis inicial podía ser incrementada según criterio de los psiquiatras. Asimismo, en algunos casos fue necesario añadir una dosis adecuada de antipsicóticos o

benzodicepinas. En el caso en que el paciente hubiera estado bajo tratamiento farmacológico antes de su inclusión en el estudio, se realizó un *wash up* de dos semanas previo al tratamiento con citalopram.

Gravedad del episodio Índice y evolución: para ello se utilizó la escala de Hamilton para Depresión (HDRS) de 21 ítems, que como ya hemos visto, valora la severidad del síntoma depresivo. Los pacientes fueron evaluados en el momento de la inclusión y antes del tratamiento, y posteriormente una vez al mes, hasta finalizar la semana 12. En total se recogieron 4 evaluaciones diferentes para cada paciente.

Niveles plasmáticos de citalopram: Tanto los niveles plasmáticos de citalopram como los de su metabolito (desmetilcitalopram) fueron determinados a la sexta semana de seguimiento mediante High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Olesen et al., 1996), con el principal objetivo de realizar un seguimiento de la cumplimentación del tratamiento y secundariamente detectar individuos con la metabolización alterada para el citalopram.

Establecer criterios de respuesta clínica: los individuos fueron clasificados como respondedores al tratamiento cuando se produjo una disminución de, al menos, un 50% en el segundo HDRS (cuarta semana) con respecto al HDRS inicial (según criterios establecidos por Baumann y cols, 1996).

Establecer criterios de remisión clínica: una remisión real del episodio depresivo fue considerada cuando la puntuación del HDRS realizado a la duodécima semana era igual o inferior a 7 (según criterios establecidos por Frank y cols, 1991).

Perfil clínico y demográfico de la muestra máxima de pacientes

En base a las variables previamente descritas, se resume a continuación el perfil sociodemográfico y clínico de la muestra total de pacientes utilizada en la presente Tesis. Las diferencias existentes en el número de pacientes incluidos en cada uno de los manuscritos, es debido a las diferentes fases de muestreo en las que se llevaron a cabo los análisis moléculares.

La muestra final estaba formada por 290 pacientes (82 hombres y 208 mujeres) con una media de edad de 46.38 años (DE=15.08). Clínicamente presentaron una edad de inicio de 38.17 años (DE=14.8) y una media de 2.65 episodios (DE=1.9). El tiempo medio de evolución de la enfermedad fue de 8.60 años (DE=9.7). La duración media de los episodios fue de 6.54 meses (DE=6.9). La puntuación media del test de Hamilton en el episodio índice fue de 25.63 (DE=5,26). Entre los pacientes, el 35% de los sujetos presentaban historia familiar positiva de trastornos psiquiátricos graves en familiares de primer grado, el 37.5% presentó un patrón estacional en sus episodios y un 18.5% presentaron, como mínimo, un intento de suicidio. El 49.7% de los pacientes incluidos en la muestra presentaban síntomas melancólicos, y el 24.6% síntomas psicóticos.

1.2 Controles

Para confeccionar la muestra control, se seleccionaron individuos mayores de 18 años, sin antecedentes psiquiátricos personales ni enfermedad somática grave (evaluados según entrevista GHQ, versión española de 28 items (Goldberg and Hillier, 1979)) sobre y con un perfil sociodemográfico equivalente al del grupo de enfermos.

No fue incluido ningún individuo cuyos familiares de primer grado presentaran o hubieran presentado trastornos psiquiátricos graves como esquizofrenia, trastorno bipolar o Trastorno depresivo mayor. La selección de los controles fue llevada a cabo por los psiquiatras del grupo del CSM mediante una breve entrevista personal y fueron reclutados, mayoritariamente, entre la población del área de influencia del CSM de Esquerra de l'Eixample de Barcelona.

Todos los individuos que formaron la muestra control fueron informados de la naturaleza del estudio antes de ser incluidos en el mismo. Aquellos que accedieron voluntariamente a participar, firmaron antes una hoja de consentimiento informado.

La muestra final de población control incluida en el estudio estaba formada por 170 sujetos sanos y no emparentados (89 hombres y 81 mujeres), de las mismas características socio-económicas que la muestra de pacientes y una procedencia geográfica equivalente.

Tabla 21. Distribución de las variables sociodemográficas en las muestras de pacientes y controles seleccionados para este estudio

	PACIENTES (n=290)	CONTROLES (n=170)
Edad	Media (\pm DE)= 46.38 \pm 15.08	Media (\pm DE)= 42.1 \pm 10.35
Sexo (Hombre:Mujer)	82:208	89:81
Procedencia geográfica peninsular de los cuatro abuelos	Norte: 50.2% Sur: 48.4% Vascos: 1.4%	Norte: 46.6 % Sur: 51.5 % Vascos: 1.9 %

2. DISEÑO DE UN ESTUDIO CASO-CONTROL

Los análisis de asociación genética son, actualmente, una de las mejores estrategias para la identificación de genes de efecto menor a moderado de enfermedades genéticamente complejas en las que no existe ningún modelo de herencia conocido y, muy probablemente, son varios los genes de efecto menor involucrados en el trastorno.

El diseño de este tipo de análisis corresponde, normalmente, al de un estudio caso-control. En estos estudios, se comparan las frecuencias con que se encuentra un hipotético factor de riesgo en personas afectadas por una misma enfermedad, respecto a la frecuencia observada en individuos sanos y no emparentados del mismo grupo étnico, que formarían parte de la población control.

Si el factor de exposición se encuentra con más frecuencia en el grupo de enfermos que en el grupo de controles, diremos que existe una asociación entre dicho factor y la enfermedad. En otras palabras, la exposición a ese factor incrementa el riesgo de padecer la enfermedad.

En definitiva, dada una población de enfermos en que a individuos presentan el alelo de riesgo y c no lo presentan, y, siendo las respectivas frecuencias absolutas en controles sanos iguales a b y d , podemos construir la Tabla 22 y proceder, posteriormente a la estimación del OR o medida del riesgo conferido por el alelo o alelos de riesgo.

El OR indica cuántas veces es más frecuente la enfermedad en individuos que poseen el marcador que en individuos que no lo poseen. Una OR igual a 1 (o que no difiera significativamente de 1) indica que no existen diferencias en lo que se refiere a la susceptibilidad para la enfermedad en individuos con el marcador estudiado o sin él. En cambio, un riesgo relativo mayor que 1 indica que ese

marcador confiere susceptibilidad para la enfermedad. El valor de OR debe acompañarse siempre de un intervalo de confianza (normalmente del 95%). Este rango de confianza es otro indicador de la significación estadística de la asociación y resulta más informativo que el simple valor de la prueba χ^2 y su p (probabilidad) asociada. Los resultados del análisis de asociación serán tanto más robustos cuanto menor sea el intervalo de error, es decir, cuanto más pequeño sea el intervalo de confianza. Asimismo, la asociación será tanto más significativa, cuando, no incluyendo el valor 1, los extremos del intervalo se alejen más de ese valor.

Tabla 22. Estimación del OR conferido por los alelos de riesgo (adaptación de Gutierrez and Rosa, 2000).

CÁLCULO DEL RIESGO (OR)			
	CASOS	CONTROLES	
ALELO DE RIESGO PRESENTE	a	b	a+b
ALELO DE RIESGO AUSENTE	c	d	c+d
	a+c	b+d	

$$\text{Riesgo (OR)} = \frac{a/c}{b/d} = \frac{ad}{bc}$$

Una variante de los estudios de asociación clásicos, diseñados según un modelo caso-control, son los análisis de asociación basados en familias o tripletes, en los cuales los padres de los casos son utilizados como controles. Este método, que elimina los posibles problemas de estratificación poblacional, fue propuesto inicialmente por Falk y Rubenstein (Falk and Rubinstein, 1987) y su potencia

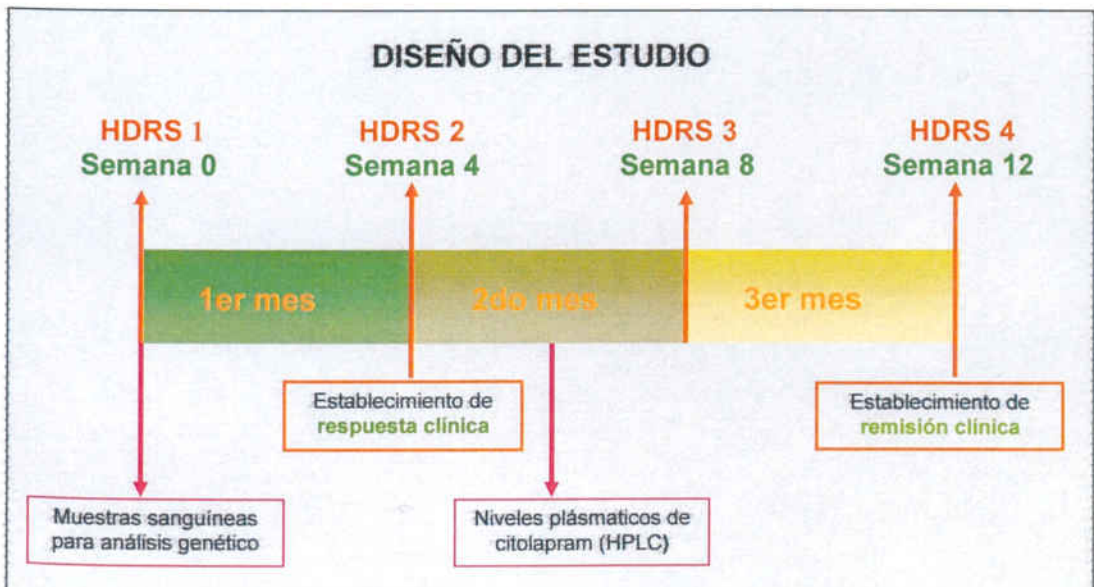
estadística respecto a otro tipo de análisis ha sido demostrada recientemente por Risch y Merikangas (Risch and Merikangas, 1996). En este tipo de aproximación se compara la frecuencia con que se transmite el hipotético alelo de riesgo de padres a hijos respecto a la frecuencia de no transmisión. Los alelos que no han sido transmitidos al probando son considerados como los controles.

En el presente estudio el diseño se basó en el modelo tradicional, en el que se ha considerado dos muestras independientes, casos y controles, formadas respectivamente por individuos no emparentados.

3. DISEÑO DE UN ESTUDIO DE FARMACOGENÉTICA

Todos los pacientes que fueron incluidos en el protocolo farmacogenético se encontraban en una fase activa del episodio depresivo. En la Figura 7 podemos ver, de manera detallada, cual fue el seguimiento de estos pacientes durante las doce semanas posteriores a su inclusión en el estudio, previo consentimiento informado. En el momento de la inclusión, todos los pacientes fueron evaluados para la severidad de la sintomatología depresiva mediante un HDRS. Posteriormente se obtuvo la muestra sanguínea necesaria para los análisis genéticos. Los criterios de respuesta y remisión clínica fueron establecidos en función de las puntuaciones del HDRS a la cuarta y a la duodécima semana, respectivamente, según ha sido definido previamente. Finalmente, a la sexta semana se realizó una medición de los niveles plasmáticos de citalopram y de su metabolito principal, el desmetilcitalopram mediante HPLC.

Figura 7. Diseño del estudio y protocolo del seguimiento a largo plazo de una muestra de pacientes diagnosticados de depresión mayor según criterios DSM-IV y tratados con citalopram.



La muestra final estuvo formada por 131 pacientes (31 hombres y 100 mujeres) con una media de edad de 39.96 años (DE=12.27). Clínicamente presentaron una edad de inicio de la enfermedad de 31.37 años (DE=10.9) y una media de 2.56 episodios (DE=1.98).

Todos los pacientes fueron tratados con citalopram (dosis media inicial 27.02 ± 8.19 ; [rango 20-40mg/día]). A la sexta semana se midieron los niveles de citalopram (media= 57.41 ± 31.31) y los de su metabolito, desmetilcitalopram (media= 28.6 ± 15.3).

Los pacientes presentaron una puntuación media en el Hamilton inicial de 24.86 (DE=4.7); la puntuación a la cuarta semana fue de 11.57 (DE=6.1), a la octava semana de 7.34 (DE=4.8) y a la duodécima de 5.70 (DE=5.16). Un 32.1% de los pacientes fue clasificado como respondedor a la cuarta semana (según criterios establecidos por (Baumann y cols, 1996)), y un 30.5% de los pacientes alcanzaron el estado de remisión del episodio depresivo a la duodécima semana (Frank y cols, 1991).

4. ANÁLISIS MOLECULARES

En la Tabla 23 se especifica de manera exhaustiva cuales han sido los genes y los respectivos polimorfismos que han sido analizados en la presente Tesis. Todos ellos fueron analizados por técnicas habituales de amplificación por PCR (*Polimerase Chain Reaction*); en el que caso en que fue necesario se realizó una digestión con enzimas de restricción y, finalmente, electroforesis en geles de agarosa o poliacrilamida según condiciones especificadas en Tabla 23.

Tabla 23. Características y condiciones para la determinación de los polimorfismos analizados en el presente estudio

Polimorfismo Analizado	Referen	Frecuencia de los alelos en pob. Gen.	Primers	Composición de la mix (25µl)	Programa de PCR	Producto de PCR	Condiciones de digestión	Electroforesis y tinción	Bandas observadas
GEN HTR1A									
Pro16Leu	(Harada y cols, 1996)	Pro16:0.96 Leu16: 0.04	5HT1A-1F: 5' atg gat gtg ctg agc cct ggt 3' 5HT1A-ER: 5' att ggc cac gtt ctg cag gga 3'	100 ng de ADN 3 Mm de MgCl ₂ 200 µM dNTPs 1µM oligos 0.5 u Taq Pol	95° 3' 95° 45" 60° 45" 72° 45" 72° 10' x35	346 pb	5 u de MspI 37°C Toda la noche	Agarosa 4% V: 100v T: 3 h Tinción con BrEt	Pro16: 176pb, 154 pb 15 pb Leu16: 192 pb, 154pb
Ile 28Val	(Erdmann y cols, 1995)	Ile28:0.98 Val28:0.02	5HT1A-1F: 5' atg gat gtg ctg agc cct ggt 3' 5HT1A-ER: 5' att ggc cac gtt ctg cag gga 3'	100 ng de ADN 3 Mm de MgCl ₂ 200 µM dNTPs 1µM oligos 0.5 u Taq Pol	95° 3' 95° 45" 60° 45" 72° 45" 72° 10' x35	346 pb	5u de BsmAI 55°C Toda la noche	Agarosa 4% V: 100v T: 3 h Tinción con BrEt	Ile28: 169pb, 163pb, 13pb Val28: 169pb, 129pb, 34pb, 13pb
Gly272Asp	(Kawanis hi y cols, 1998)	Gly272:0.98 Asp272:0.02	5HT1A-HF: 5' gga gct ttc tac atc cag ctg 3' 5HT1A-HR: 5' ctg ttg gga gtt gcc cac tgg 3'	100 ng de ADN 1.5 Mm de MgCl ₂ 200 µM dNTPs 1µM oligos 0.5 u Taq Pol	95° 3' 95° 45" 58° 45" 72° 45" 72° 10' x35	306 pb	5 u de FokI 37°C Toda la noche	Agarosa 4% V: 100v T: 3 h Tinción con BrEt	Gly272: 248pb, 58 pb Asp272: 168pb, 80pb, 58pb
C-1018G	(Arias y cols, 2002)	1018C:0.53 1018G:0.47	5HT1A-2MOD (mutag): 5' tgg aag aag acc gag tgt gtc tac 3' 5HT1A-U1F: 5' ttc tcc ctg ctg gga gag taa ggc tgg 3'	100 ng de ADN 1.5 Mm de MgCl ₂ 200 µM dNTPs 1µM oligos 0.5 u Taq Pol	95° 3' 95° 45" 56° 45" 72° 45" 72° 10' x35	182 pb	5 u de CH4IV 37°C Toda la noche	Agarosa 4% V: 100v T: 3 h Tinción con BrEt	C1018: 182 pb G1018: 158pb, 24pb

GEN HTR2A		T2-5.1: 5'cgccgcgcgccccgcg gcccctccgcgcctcgtc cagttcggctt'3		100 ng de ADN 1.5 mM de MgCl ₂ 200 μM dNTPs 1 μM oligos 0.5 u Taq Pol		94°C 3' 94°C 1' 60°C 45" x35 72°C 1'30" ^d		300 pb		10 u de <i>MspI</i> 37°C Toda la noche		Agarosa 2% V: 100v T: 3 h Tinción con BrEt		T102: 372pb C102: 216pb, 156 pb	
102T/C	(Warren y cols, 1993)	T102: 0.4 C102: 0.6	T2-3.4: 5'cgcagcttttctctaggg 3'												
GEN HTR5A		1MF: 5'ccctctcgaagtactcc a'3 1MR: 5'ggaaggtcgtacacgg a'3		100 ng de ADN 3 mM de MgCl ₂ 250 μM dNTPs 0.3 μM oligos 1 u Taq Pol Vol final=30 μl		95°C 3' 95°C 1' 58°C 45" x35 72°C 45"		200 pb		7.5 u de <i>BsaJI</i> 60°C Toda la noche		Acrilamida 10% V:150v T:5h Tinción con AgNO ₃		G19: 145,92,18pb. C19: 145, 110pb	
-19G/C	(Shimron-Abarbane II y cols, 1997)	-G19: 0.63 -C19: 0.37													
SLC6A4		1MF: 5'ccctctcgaagtactcc a'3 1MR: 5'ggaaggtcgtacacgg a'3		100 ng de ADN 3 Mm de MgCl ₂ 250 μM dNTPs 0.3 μM oligos 1 u Taq Pol Vol final=30 μl		95°C 3' 95°C 1' 58°C 45" x35 72°C 45" 72° C 10'		200 pb		5u de <i>Bsrl</i> 65°C Toda la noche		Gel de agarosa 4% V: 80v T: 4 h Tinción con BrEt		T12: 155pb A12: 204,51pb	
12-A/T	(Shimron-Abarbane II y cols, 1997)	T12: 0.66 A12: 0.34													
5-HTTLPR		STPR3: 5'gag gga ctg agc tgg aca ac '3 STPR5: 5'ggc gtt gcc gct ctg aat gc '3		100 ng de ADN 1.5 Mm de MgCl ₂ 250 μM dNTPs* 0.3 μM oligos 1 u Taq Pol Vol final=30 μl		95°C 35" 59°C 60" 72°C 90" 72° C 10'		528/484pb				Gel de agarosa 3% V: 80v T: 4 h Tinción con BrEt			
5-HTTLPR	(Lesch y cols, 1996)	528 (L): 0.58 484(S): 0.42													

BrEt: Bromuro de etidio/ AgNO₃:Nitrato de plata

*En la concentración final de dNTPs de la mix para el polimorfismo 5-HTTLPR, la mitad de los GTPs utilizados deben ser deaza-GTPs

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- *Cálculo del equilibrio Hardy-Weinberg*

El equilibrio Hardy-Weinberg para las frecuencias genotípicas fue analizado tanto en pacientes como en controles utilizando el test de la χ^2 (Paquete estadístico EPI Info VI y SPSS v.8-11)

- *Cálculo de odds ratios*

El test de la χ^2 fue también utilizado para confirmar la presencia o la ausencia de asociaciones alélicas o genotípicas. Se calcularon los diferentes *odds ratios* (OR) con intervalos de confianza al 95% (IC) para estimar el riesgo conferido por los genotipos y alelos (EPI Info VI y SPSS v.8-11).

- *Cálculos de haplotipos*

Un haplotipo es una combinación de alelos de loci diferentes y ligados, situados en una misma región cromosómica, y que se heredan como una unidad. El uso de los haplotipos nos permite confirmar el análisis de asociación genética y aumenta nuestro poder al considerar la variación de todo un segmento de ADN haploide en lugar de una única localización puntual.

Las frecuencias haplotípicas se estimaron con el programa ARLEQUIN (Excoffier and Slatkin, 1995). Asumiendo la existencia de equilibrio Hardy Weinberg, este programa permite inferir haplotipos a partir de las frecuencias genotípicas poblacionales utilizando el método de máxima verosimilitud basado en el algoritmo EM (Dempster y cols, 1997).

El coeficiente de desequilibrio de ligamiento D' , propuesto por Lewontin (Lewontin, 1964), se calculó utilizando un programa estadístico (no publicado)

diseñado por el Dr. Bertranpetit. La significación del desequilibrio de ligamiento fue estimada por el programa ARLEQUIN.

- *Análisis de la varianza (ANOVA) con medidas repetidas*

Los modelos de análisis de la varianza (ANOVA) con medidas repetidas sirven para estudiar el efecto de uno o más factores cuando al menos uno de ellos es un factor intra-sujetos, que se caracteriza porque todos los niveles del factor se aplican a los mismos sujetos (en nuestro caso la escala HDRS que fue aplicada en cuatro ocasiones durante los tres meses de seguimiento de los pacientes). Estos cálculos se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS v. 8-11)

- *Corrección de Bonferroni*

En los estudios de asociación clásicos se llevan a cabo, generalmente, un número elevado de comparaciones. En estas circunstancias puede incurrirse en errores de tipo I o "falsos positivos". Este problema estadístico puede ser corregido dividiendo el nivel convencional de significación del 0.05 por el número de comparaciones realizadas, tal y como se propone en la corrección de Bonferroni. En el caso de que la asociación continúe siendo significativa el resultado debe ser considerado como verdadero, aunque debido a que es un método muy restrictivo, seguramente implica rechazar algunos casos no extremos en los que sí podría existir asociación (Simes, 1986).

VI.RESULTADOS

a. Vulnerabilidad genética y depresión

Capítulo 1

**Variability in the 5-HT_{2A} receptor gene is associated with seasonal pattern in
major depression**

B. Arias, B. Gutiérrez, L. Pintor, C. Gastó, L. Fañanás

Molecular Psychiatry 6: 239-242 (2001)

RESUMEN:

Diversos estudios han puesto de manifiesto la relación existente entre la variabilidad genética asociada a genes de receptores serotoninérgicos y diferentes perfiles de estacionalidad en pacientes con trastorno depresivo, sugiriendo la existencia de un rol de ciertas variantes genéticas en la modulación estacional del síntoma depresivo.

El polimorfismo 102-T/C del gen del receptor de serotonina 5-HT_{2A} fue analizado en 159 pacientes con depresión mayor y 164 individuos control sanos y no emparentados utilizando un diseño clásico caso-control. No se encontraron diferencias significativas entre casos y controles cuando se compararon estadísticamente las frecuencias alélicas y genotípicas. Tampoco se encontraron diferencias cuando se realizó una comparación en función del sexo, la edad de inicio, melancolía, comportamiento suicida o historia familiar de enfermedad mental. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas cuando se compararon las frecuencias genotípicas entre pacientes con patrón estacional (DME) y pacientes sin patrón estacional (N-DME) ($\chi^2 = 10.63$; $P=0.004$). El patrón estacional era 7.57 veces más frecuente en los portadores del alelo 102-C que en los homocigotos 102T (95.1% de los pacientes DME eran portadores del alelo 102-C vs el 72% de los pacientes N-DME ($\chi^2 = 9.45$, $df=1$, $P=0.002$; $OR=7.57$ [95% CI: 1.65-48.08])). Estos resultados sugieren que la variabilidad asociada al gen del receptor de serotonina 5-HT_{2A} podría jugar un rol en el desarrollo de la depresión mayor con patrón estacional, y apoya la existencia de una heterogeneidad genética y etiológica subyacente al diagnóstico de la depresión mayor.



ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

Variability in the 5-HT_{2A} receptor gene is associated with seasonal pattern in major depressionB Arias¹, B Gutiérrez¹, L Pintor², C Gastó² and L Fañanás¹

¹Unitat d'Antropologia, Departament de Biologia Animal, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain; ²Centre de Salut Mental Esquerre de l'Eixample, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Spain

Keywords: 5-HT_{2A} gene; seasonality; major affective disorders

The 102-T/C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene was analysed in 159 patients with major depression and 164 unrelated and healthy controls using a case-control design. Allele and genotype frequencies did not differ between cases and controls. No differences according to sex, age of onset, melancholia, suicidal behaviour or family history of psychiatric illness were found. However, genotype distributions significantly differed between patients with seasonal pattern in their episodes (MDS) and patients with no seasonal pattern (N-MDS) ($\chi^2 = 10.63$; $P = 0.004$). A seasonal pattern was 7.57 times more frequent in 102C-allele carriers than in 102T homozygous (95.1% of patients MDS carried 102C-allele vs 72% of patients N-MDS ($\chi^2 = 9.45$, $df=1$, $P = 0.002$; OR = 7.57 (95% CI: 1.65–48.08)). These results suggest that variation in the 5-HT_{2A} receptor gene may play a role in the development of major depression with seasonal pattern and support the existence of a genetic and etiological heterogeneity underlying the diagnosis of major depression. *Molecular Psychiatry* (2001) 6, 239–242.

Alterations in the serotonin system of the central nervous system have classically been related to the origin of depression. Thus, genes encoding proteins involved in the serotonergic system including the 5-HT transporter and 5-HT_{2A} are major candidate genes in association studies of major affective disorders.

The 5-HT_{2A} receptor gene presents a polymorphism (102T/C) that does not result in alteration of the amino acid sequence of the 5-HT_{2A} receptor protein but has been shown to be in absolute linkage disequilibrium with a polymorphism (-1438A/G) in the promoter region of the gene. However, a functional analysis of -1438A/G polymorphism has failed to demonstrate that this polymorphism influences the transcription of the 5-HT_{2A} receptor gene.¹ Although no positive results have been found in major affective disorders,^{2–4} studies in other disorders such as anorexia or suicidal behaviour seem to find a positive association between the 5-HT_{2A} receptor gene and the disease.^{5,6} Recently, an association was found in seasonal affective disorders,⁷ disagreeing with other results.⁸ In the same way, some studies found that the response to clozapine was associated with this polymorphism^{9,10} although negative results were also reported.^{11,12}

More recently, some authors have described the

relationship between genetic variability in serotonin receptor genes (serotonin transporter and 5-HT_{2A}) and different profiles of seasonality in patients with affective disorders, suggesting the possible role of certain allelic variants in the seasonal modulation of depressive symptom outcome.^{7,13}

In the present study, we analysed the possible relationship between variation in the 5-HT_{2A} receptor gene and liability for major depression in samples of Spanish origin. Although several authors have explored the possible relationship between variability in this gene and mood disorders, results are not congruent. This is probably due to the clinical heterogeneity of the samples, which in many cases included depressive disorders (broadly defined) and bipolar cases.^{4,14}

Given the allele frequencies described in the general population for the 102-T/C polymorphism in the 5-HT_{2A} receptor gene, our sample had 80% power (95% CI) to detect an allelic association that confers a risk greater than or equal to 2.

Genotype frequencies were in Hardy-Weinberg equilibrium for both groups, MDS patients (chi-squared = 3.92, $P = 0.139$) and N-MDS patients (chi-squared = 0.61, $P = 0.736$). No overall differences in genotype or allele frequencies were found when patients with major depression (MD) were compared to controls (Table 1). The analysis of genetic data according to seasonality showed differences in genotype frequencies between depressed patients with seasonal pattern (MDS) and those with no seasonal pattern (N-MDS) (chi-squared = 10.63, $df = 2$, $P = 0.004$). The association increased when allele 102C was considered dominant: 95.1% of patients MDS carried the 102C-allele vs 72% of patients N-MDS (chi-squared = 9.45, $df = 1$, $P = 0.002$; OR = 7.57 (95% CI: 1.65–48.08)) (Table 1). Except for seasonality, the rest of the clinical variables considered in the study (depressive symptom severity, psychiatric family history, age of onset, presence of psychotic symptoms, number and length of episodes and admissions, melancholia and suicidal behaviour) were not found to be differentially distributed across genotypes (data not shown). Although the analysis of all these clinical variables according to the 5-HT_{2A} genotype involved many statistical comparisons, the association between the 5-HT_{2A} gene and MD with sea-

Table 1 Genotype and allele frequencies of the 5-HT_{2A}-102-T/C polymorphism in patients with Major Depression (MD), patients with both MD and seasonal pattern (MDS), patients with MD but non-seasonal pattern (N-MDS) and Controls

	n	Genotype frequencies (%)			Allele frequencies (%)	
		T102/T102	T102/C102	C102/C102	T102	C102
Major Depression (MD)	159	35 (22.0)	81 (50.9)	43 (27.1)	151 (47.5)	187 (52.5)
MDS	41	2 (4.9)	28 (68.3)	11 (26.8)	32 (39.0)	50 (61.0)
N-MDS	118	33 (28.0)	53 (44.9)	32 (27.1)	119 (50.4)	117 (49.6)
Controls	164	30 (17.9)	81 (49.3)	53 (32.8)	141 (42.9)	187 (57.1)

sonal pattern still remained significant after Bonferroni correction ($P < 0.006$).

From a clinical point of view, the subgroup of patients who suffered from major depression with seasonal pattern showed an earlier age of onset, significantly higher scores for the Hamilton Depression Rating Scale, more frequent melancholia and more suicide attempts than patients with non-seasonal pattern (Table 2).

A recent study shows that the 5-HTTLPR polymorphism, a functional variant in the promoter region of the serotonin transporter gene, is associated with SAD and seasonality.¹³ Although the 5-HT_{2A} 102-T/C polymorphism has also been associated with SAD,⁷ the possible effect of both markers (5-HTTLPR and 102-T/C) on seasonality do not seem to be additive.⁷ In a previous study we had genotyped a subset of our sample for the 5-HTTLPR polymorphism and found an association with melancholia. In the present study we analysed the possible additive effect of the 5-HTTLPR polymorphism and the 5-HT_{2A} 102-T/C on seasonal pattern. In agreement with Enoch *et al*,⁷ we did not find any evidence that such an effect exists. However, the combination of 484-484 and C102-C102 genotypes was found to be more frequent in subjects with major

depression than in controls (chi-squared = 4.70, $P = 0.030$, OR = 2.82 (95% CI: 0.99-8.40)).

Seasonal changes in mood and behaviour have been reported to occur in the general population along a spectrum of severity.^{15,16} Several studies suggest that the morbid extreme of the spectrum of seasonality is constituted by seasonal affective disorder (SAD), a clinically diagnosed syndrome that tends to run in families and happens in individuals with a biological predisposition.¹⁷ The lifetime prevalence of SAD is 0.4% in major depression and 1% in minor depression.¹⁸ However, seasonal patterns of depressive symptoms are much more common. It has been reported that about 15% of recurrent affective disorders have a seasonal pattern.¹⁹ Given the importance of the 5-HT function in control of behaviours that vary with seasons, including appetite, sleep, weight regulation and mood, some authors have already explored the possible role of serotonin pathway genes in the causality of SAD. A functional polymorphism located in the promoter region of the serotonin transporter gene, has been shown to be associated with seasonal affective disorder (SAD) and seasonality.¹³ More recently, Enoch *et al*⁷ found a significant increase in the frequency of the -1438A variant of the 5-HT_{2A} promoter polymorphism

Table 2 Distribution of clinical variables in patients with major depression according to the presence or absence of seasonal pattern

	MDS (n = 41)	N-MDS (n = 118)	P
	Percentage		
Sex	Male: 26.8% Female: 73.2%	Male: 33.9% Female: 66.1%	0.263
*FH+	43.9%	30.5%	0.087
Psychotic symptoms	26.8%	28.8%	0.489
Melancholia	73.2%	55.1%	0.031
	Mean (SD)		P
Onset	34.34 (SD = 11.88)	46.36 (SD = 15.28)	0.000
Hamilton index episode	28.12 (SD = 6.36)	25.46 (SD = 5.09)	0.008
Suicide attempts	0.61 (SD = 1.16)	0.27 (SD = 0.65)	0.022
Episode length	5.00 (1.91)	7.92 (4.40)	0.000

*FH+: at least one first degree relative affected by unipolar depression, bipolar disorder or schizophrenia.

(which is in strong linkage disequilibrium with the 102T variant of the 102-T/C polymorphism) in SAD patients.

Our results in an independent sample of Spanish subjects showed that variability in the 5-HT_{2A} receptor was associated with seasonal pattern in major depression. Depressed patients with seasonal pattern showed an increased frequency of the 102C allele (equivalent to the -1438G variant) when compared with patients with no seasonal pattern and controls. These results are in agreement with those found for Enoch *et al*⁷ who, as mentioned above, described an association between the 5-HT_{2A} gene and SAD, although in their study the association was with allele -1438A (or 102T) and it did not seem to be directly related with seasonality but with depressive symptoms of SAD. Since the 102-T/C polymorphism does not cause a change in amino acid sequence of the 5-HT_{2A} receptor and it has not detected functional differences according to -1438-G/A variants, these results may reflect the effect of a functional polymorphism elsewhere in the gene through linkage disequilibrium.

The fact that our subgroup of patients with seasonal pattern is also characterised by an earlier age of onset, more severe index episodes, more suicide attempts and melancholia, and shorter length of episodes, makes us think about the existence of a clinical and etiological heterogeneity within the whole group of depressed patients.

In a previous study, we already found evidence for heterogeneity in a sub-sample of these same depressed subjects.²⁰ An association between the 484-Stin2.10 haplotype in the serotonin transporter gene and major depression was described only in patients who strictly met DSM-IV criteria for melancholia.

Heterogeneity has classically been reported by different authors who consider major depression as a unique illness, though dynamic, variable, and pleomorphic in its clinical presentation and certainly etiological heterogeneous.²¹ According to this, depressive symptoms could be considered as a multiform sequence of states with patients commonly experiencing a variety of depressive subtypes characterised by subtle changes in course and intensity of episodes.²² These changes might reflect the etiopathogenic differences existing among subjects and may explain the genetic differences between sub-groups of patients described in the present study.

In the near future, replication studies in large, independent and diagnostically robust samples of cases with major depression will be needed to confirm the risk that the 5-HT_{2A} gene seems to confer in major depression. This will also allow the diagnostic sub-grouping of cases to determine if the C102 allele has consequences for specific symptoms.

Materials and methods

Subjects

One hundred and fifty-nine unrelated patients with major depression (51 men and 108 women) from the

Mental Health Service of the Eixample district in Barcelona, and 162 healthy and unrelated controls (83 men and 81 women) from the same geographic and ethnic origin as the patients were included in the study.

Patients were diagnosed according DSM-IV criteria²³ by two experienced clinicians (LP and CG) who personally interviewed each patient. The Spanish version of the Structural Clinical Interview for DSM-III-R (SCID²⁴) was used for this purpose. Accurate information about severity of depressive symptoms, psychiatric family history, age of onset, presence of psychotic symptoms, number and length of episodes and admissions, melancholia, suicidal behaviour and seasonal pattern was also compiled.

Severity was evaluated by the 17-item Hamilton Depression Scale.²⁵ Family history was determined on the basis of a structured personal interview with at least one first degree relative of each proband.²⁶ Subjects were considered to have a positive family history of mental illness when at least one of their first degree relatives suffered from schizophrenia, schizoaffective disorder, bipolar or unipolar depression. Age at onset was defined as the age at which affective symptoms first became evident. Presence of melancholia was determined according to DSM-IV criteria. Suicidal behaviour was analysed by review of medical records and responses to a short SADS-based questionnaire applied to patients and their relatives. In the present study, we used a broad definition of seasonality: patients were considered to present a seasonal pattern of the illness simply when a regular temporal relationship between the onset and the remission of an episode and a particular period of the year existed. This definition corresponds to the first point of the DSM-IV seasonal pattern Specifier Criteria. All subjects provided informed consent to participate in the study.

On average, patients were 54.86 years old (SD = 16.21) when included in the study and controls were 41.4 years old (SD = 10.35). They had a mean age of onset of 41.42 years old (SD = 15.85) and an average of 2.70 episodes (SD = 1.95) during 13.17 years since symptoms first appeared (SD = 11.06). The mean length of episodes was 8.83 months (SD = 4.09). The mean Hamilton score at index episode was 25.99 (SD = 5.57). Among patients, 34% of subjects had a positive family history of severe psychiatric disorders and 21% had committed at least one suicide attempt.

Molecular analysis

Genomic DNA was extracted from blood samples using a standard phenol-chloroform method. The 102-T/C polymorphism in the 5-HT_{2A} receptor gene, which is in absolute linkage disequilibrium with the -1438-G/A variant studied by Enoch *et al*,⁷ was genotyped according to Warren's assay²⁷ based on the polymerase chain reaction and subsequent *MspI* digestion.

Statistical analysis

Hardy-Weinberg equilibrium for genotype frequencies was tested in both patients and controls using chi-



squared tests (chi-squared for controls = 0.02, $P = 0.992$; chi-squared for patients = 0.05, $P = 0.975$).

Simple chi-squared tests of independence were also performed to confirm the presence or absence of allele or genotype associations. Odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CI) were estimated for the effects of high-risk genotypes and alleles.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from Ministerio de Educación y Cultura and Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica PM98-0184. Bárbara Arias was awarded a *Bolsa d'Estudis Abelard Fàbrega* by Institut d'Estudis Catalans. The authors would like to thank referees for their useful comments.

References

- Spurlock G, Heols A, Holmans P, Williams J, D'souza UM, Cardno A *et al*. A family based association study of T102C polymorphism in 5-HT_{2A} and schizophrenia plus identification of new polymorphisms in the promoter. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 42-49.
- Gutiérrez B, Arranz MJ, Fañanás L, Vallés V, Guillaumat R, Van Os J *et al*. 5HT_{2A} receptor gene and bipolar affective disorder. *Lancet* 1995; 346: 969.
- Mahieu B, Sourey D, Lipp O, Mendelbaum K, Verheyen G, De Maertelaer V *et al*. No association between bipolar affective disorder and a serotonin receptor (5-HT_{2A}) polymorphism. *Psychiatry Res* 1997; 70: 65-69.
- Ohara K, Nagai M, Toshio T, Kunihiko T, Suzuki Y, Ohara K. 5-HT_{2A} receptor gene promoter polymorphism -1438G/A and mood disorders. *Neuroreport* 1998; 9: 1139-1141.
- Collier DA, Arranz MJ, Li T, Mupita D, Brown N. Association between 5-HT_{2A} gene promoter polymorphism and anorexia nervosa. *Lancet* 1997; 350: 412.
- Du L, Bakish D, Lapierre YD, Ravindran AV, Hrdina PD. Association of polymorphism of serotonin 2A receptor gene with suicidal ideation in major depressive disorder. *Am J Med Genet* 2000; 96: 56-60.
- Enoch MA, Goldman D, Barnett R, Sher L, Mazzanti CM, Rosenthal NE. Association between seasonal affective disorder and the 5-HT_{2A} promoter polymorphism, -1438G/A. *Mol Psychiatry* 1999; 4: 89-92.
- Ozaki N, Rosenthal NE, Pesonen U, Lappalainen J, Feldman-Naim S, Schwartz PJ *et al*. Two naturally occurring amino acid substitutions of the 5-HT_{2A} receptor: similar prevalence in patients with seasonal affective disorder and controls. *Biol Psychiatry* 1996; 40: 1267-1272.
- Arranz MJ, Collier D, Monsheer S, Ball D, Roberts G, Price J *et al*. Association between clozapine response and allelic variation in 5-HT_{2A} receptor gene. *Lancet* 1995; 346: 281-282.
- Arranz MJ, Munro J, Owen MJ, Spurlock G, Sham P, Zhao J *et al*. Evidence of association between polymorphism in the promoter and coding regions of the 5-HT_{2A} receptor gene and response to clozapine. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 61-66.
- Malhotra AK, Goldman D, Ozaki N, Breier A, Buchanan R, Pickar D. Lack of association between polymorphisms in the 5-HT_{2A} receptor gene and antipsychotic response to clozapine. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 1092-1094.
- Masellis M, Basile V, Meltzer HY, Lieberman JA, Seby S, Macchiardi FM *et al*. Serotonin subtype 2 receptor genes and clinical response to clozapine in schizophrenia patients. *Neuropsychopharmacology* 1998; 19: 123-132.
- Rosenthal NE, Mazzanti CM, Barnett RL, Hardin TA, Turner EH, Lam GK *et al*. Role of serotonin transporter promoter repeat length polymorphism (5-HTTLPR) in seasonality and seasonal affective disorder. *Mol Psychiatry* 1998; 3: 175-177.
- Zhang H, Ishigaki T, Tani K, Chen K, Chen Shih J, Miyasato K *et al*. Serotonin 2A receptor gene polymorphism in mood disorders. *Biol Psychiatry* 1997; 41: 768-773.
- Terman M. On the question of mechanism in phototherapy: considerations of clinical efficacy and epidemiology. *J Biol Rhythms* 1988; 2: 47-53.
- Kasper S, Wahr TA, Bartko JJ, Geist PA, Rosenthal NE. Epidemiological findings of seasonal changes in mood and behaviour: a telephone survey of Montgomery County, Maryland. *Arch Gen Psychiatry* 1989; 46: 823-833.
- Madden P, Heath A, Rosenthal E, Martin N. Seasonal changes in mood and behaviour. *Arch Gen Psychiatry* 1996; 53: 47-55.
- Blazer D, Kessler RC, Swartz MS. Epidemiology of recurrent major and minor depression with a seasonal pattern (The national comorbidity survey). *Br J Psychiatry* 1998; 172: 164-167.
- Partonen T, Lönnqvist J. Seasonal affective disorder. *Lancet* 1998; 352: 1369-1373.
- Gutiérrez B, Pintor L, Gastó C, Rosa A, Bertranpetit J, Vieta E *et al*. Variability in the serotonin transporter gene and increased risk for major depression with melancholia. *Hum Genet* 1998; 103: 319-322.
- Judd LL. The clinical course of unipolar major depressive disorders. *Arch Gen Psychiatry* 1997; 54: 989-991.
- Winokur G. All roads lead to depression: clinically homogeneous, etiologically heterogeneous. *J Affect Disord* 1997; 45: 97-108.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4th edn. American Psychiatric Association: Washington DC, 1994.
- Spitzer RL, Williams JBW, Gibbon M, First MB. Structured clinical interview for DSM-III-R American Psychiatric Press: Washington DC, 1990.
- Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neuro Neurosurg Psychiatry* 1970; 23: 51-56.
- Endicott J, Andreasen N, Spitzer RL. Family history-research diagnostic criteria. *Biometrics Research*. New York State Psychiatric Institute: New York, 1975.
- Warren JT, Peacock ML, Rodriguez LC, Fink JK. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (5HT₂): detection by DGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 338.

Correspondence: L Fañanás, Unitat d'Antropologia, Departament de Biologia Animal, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain. E-mail: lourdesf@portos.bio.uh.es
Received 18 March 2000; revised 14 July 2000; accepted 3 August 2000

Capítulo 2

**Genetic variation in the 5-HT_{5A} receptor gene in patients with bipolar disorder
and major depression**

B. Arias, D.A. Collier, C. Gastó, L. Pintor, B. Gutiérrez, V. Vallès, L. Fañanás

Neuroscience Letters 303: 111-114 (2001)

RESUMEN:

Un gran número de evidencias apoyan la hipótesis de que alteraciones en la neurotransmisión serotoninérgica se encontrarían en la base de la patofisiología de los trastornos afectivos. Debido a su implicación en la vía serotoninérgica, el gen del receptor post-sináptico 5-HT_{5A} ha sido considerado como un gen candidato de riesgo para la depresión mayor y el trastorno bipolar. En el presente estudio se analizó la variabilidad genética del receptor post-sináptico 5-HT_{5A} en 181 pacientes diagnosticados de depresión mayor (DSM-IV), 88 pacientes diagnosticados de trastorno bipolar (DSM-III-R) y 157 individuos control sanos y no emparentados, todos ellos de origen español. Dos polimorfismos, el -19G/C y el 12A/T del localizados en el gen del receptor serotoninérgico 5-HT_{5A} fueron analizados siguiendo protocolos habituales de amplificación por PCR (polymerase chain reaction) y posterior digestión con endonucleasas. No se encontraron diferencias significativas cuando se compararon las frecuencias alélicas, genotípicas o haplotípicas entre pacientes y controles. Nuestros resultados sugieren que los polimorfismos analizados en el gen del receptor 5-HT_{5A} no constituyen un factor de riesgo en la patogénesis de los trastorno afectivos.



Genetic variation in the 5-HT_{5A} receptor gene in patients with bipolar disorder and major depression

B. Arias^a, D.A. Collier^c, C. Gastó^b, L. Pintor^b, B. Gutiérrez^a, V. Vallès^d, L. Fañanás^{a,*}

^aUnitat d'Antropologia, Departament de Biologia Animal, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain

^bCentre de Salut Mental Esquerre de l'Eixample, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Spain

^cDivision of Psychological Medicine, Institute of Psychiatry, Denmark Hill, London, UK

^dServei de Psiquiatria, Consorci Sanitari de Terrassa, Barcelona, Spain

Received 27 December 2000; received in revised form 27 December 2000; accepted 7 March 2001

Abstract

In the present study, genetic variation of the 5-HT_{5A} receptor was analyzed in patients affected by affective disorders and healthy controls. The sample consisted of 181 patients with major depression, 88 patients with bipolar affective disorder (BP) and 157 unrelated controls (C), all of Spanish origin. Two polymorphisms (-19G/C and 12A/T) in the 5-HT_{5A} receptor gene were analyzed by polymerase chain reaction amplification and subsequent enzyme digestion. No genotype, allele or haplotype differences were found when we compared patients and controls. When clinical variables were considered as possible tools for detecting genetic heterogeneity, no differences were found. Our results suggest that the polymorphisms analyzed in the 5-HT_{5A} receptor gene do not play a major role in the pathogenesis of affective disorders. © 2001 Elsevier Science Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: Major depression; Bipolar disorder; 5-HT_{5A} receptor; Association study

Major depression is one of the most common psychiatric illnesses, with a heritability ranging from 36 to 75% according to recent twin studies [5]. Sex differences in rates of major depressive disorder have long been recognized; women are about twice as likely to suffer from major depressive episode as men (21.3% of women and 12.7% of men) [2]. The serotonin system is known to be sexually dimorphic in normal humans [4] with males having higher 5-HT₂ binding capacity. Otherwise, the lower rate of serotonin synthesis in the female during stressful situations could possibly increase their vulnerability to depression [11].

On the other hand, bipolar disorder affects nearly 1% of adult population, fairly equally men and women. Familiar and twin studies also suggest an important genetic effect for this disorder, with a heritability of 79% using DSM-III-R [5].

Genetic factors have long been implicated in the aetiology of affective disorders (bipolar disorder and major depression) but because of their complex inheritance patterns, identification of the responsible susceptibility

genes has been so far unsuccessful. A polygenic model of many genes with small effect, combined with environmental factors, is the most likely aetiological explanation. Association analysis is one of the most powerful strategies, more so than linkage analysis, for detecting loci of small effects that cause susceptibility to disease [12]. Nevertheless, replication of described associations is always necessary in order to understand the effect of the allele variants in the different human populations.

Considerable evidence has accumulated supporting the hypothesis that alterations in serotonergic neurotransmission are involved in the pathophysiology of mood disorders [8–10,16]. Given the difficulty of locating genes in complex diseases, one approach is to examine candidate genes identified by their biochemical function. The 5-HT_{5A} receptor gene is a candidate for major affective disorders because of its role in the serotonin neurotransmission pathway, involved in the regulation of mood, sleep, vigilance, memory and learning, feeding and sexual behaviour, all of which are altered to varying extents in depressed patients [8].

The 5-HT_{5A} receptor gene is located on chromosome 7q36.1 and is widely expressed in the brain. Recently, two polymorphisms (-19G/C and 12A/T) have been described at

* Corresponding author. Tel.: +34-93-4021461; fax: +34-93-4035740.

E-mail address: lourdesf@porthos.bio.ub.es (L. Fañanás).

Table 1
Clinical profile of the patients with Major Depression (DSM-IV) (MD) and Bipolar Disorder (DSM-III-R) (BP), included in the present study^a

	Major depression <i>n</i> = 181	Bipolar disorder <i>n</i> = 88
Mean age (\pm SD)	52.13 \pm 16.63	44.8 \pm 14.9
Mean age of onset (\pm SD)	41.42 \pm 15.85	29.60 \pm 12.03
Mean HDRS index episode (\pm SD)*	25.99 \pm 5.57	–
Time since 1st episode (\pm SD)	13.17 \pm 11.06	15.20 \pm 12.68
Suicide attempts*	19.3%	–
Presence of psychotic symptoms	25.1%	45.1%

* *Mean HDRS at index episode and suicide attempt were not available for BP patients.

this gene [14]. Birkett et al. [3] have found a strong association between the two previous mentioned polymorphisms and major affective disorders (Bipolar disorder and Major Depression (MD)) and schizophrenia.

In the present study we hypothesized that genetic variation in 5-HT_{5A} may have a role in the aetiology of affective disorders and we attempted to replicate previous findings in British samples [3] in a new sample of volunteer patients with Spanish origin.

One hundred and eighty-one unrelated patients (55 men and 126 females) with MD from the Mental Health Service of the Eixample District of Barcelona were included in the study. MD was diagnosed according to DSM-IV criteria [1] and the Spanish version of the Structural Clinical Interview for DSM-III-R (SCID) [17] was used for this purpose.

Eighty-eight patients (37 men and 51 female) with bipolar affective disorder (BP) according to DSM-III-R were included. The sample was collected from the Clinica Mental de Santa Coloma (Barcelona) (see Ref. [7] for additional details). The clinical data collected and analyzed in patients are shown in Table 1.

One hundred and sixty four healthy individuals (81 men and 82 female) (C) from the same geographic Spanish origin and sociodemographic profile as patients were considered as controls.

Genomic DNA was extracted from blood samples using a standard phenol-chloroform method. Two polymorphisms

(-19G/C and 12A/T) in the 5-HT_{5A} receptor gene (7q36) were analyzed by polymerase chain reaction (PCR) amplification and subsequent enzyme digestion with *Bsa*II (for -19G/C polymorphism characterisation) and *Bsr*I (for detection of 12A/T mutation). Identification of -19G/C genotypes was performed by means of electrophoresis in 10% polyacrylamide gels and silver nitrate staining, whereas 12A/T mutation was detected using 4% agarose gels and ethidium bromide staining.

Hardy-Weinberg equilibrium for genotype frequencies was tested in patients and controls using χ^2 tests.

Simple χ^2 tests were used to confirm the presence or absence of allele or genotype associations. The haplotype frequencies were estimated using the ARLEQUIN program [13], which infers frequencies, by a maximum-likelihood multi-locus method. Power analysis was performed using the EpiInfo 6 statistical program [6].

The analyzed polymorphisms were in Hardy-Weinberg equilibrium in the three separate samples (data not shown). We considered the power of our study taking into account the allele frequencies described in the general population for the -19G/C polymorphism in the 5-HT_{5A} receptor gene. Our sample had 80% power (95% CI) to detect an allelic association that confers a risk greater of equal than 1.89 in major depression sample and greater or equal than 2.20 in bipolar disorder sample. For the 12A/T polymorphism we can detect allelic association that confers a risk greater or

Table 2
Genotype and allele distribution of the -19G/C polymorphism in the 5-HT_{5A} receptor gene in Spanish and British samples of Major Depression, Bipolar Disorder and Controls, and in a German healthy population

GEN 5-HT _{5A} polymorphism-19G/C	<i>n</i>	Allele frequencies		Genotype frequencies		
		G19 (%)	C19 (%)	G19/G19 (%)	G19/C19 (%)	C19/C19 (%)
<i>Spanish population</i>						
Major depression	181	214 (59.1)	148 (40.9)	54 (29.8)	106 (58.6)	21 (11.6)
Bipolar disorder	86	99 (57.5)	73 (42.5)	28 (32.6)	43 (50)	15 (17.4)
Control	161	198 (61.5)	124 (38.5)	56 (34.8)	86 (53.4)	19 (11.8)
<i>British population</i>						
Major depression	75	84 (56)	66 (44)	22 (29)	40 (53)	13 (17)
Bipolar disorder	112	130 (58)	84 (42)	39 (35)	52 (46)	21 (19)
Control	194	276 (71)	112 (29)	99 (51)	78 (40)	17 (9)
<i>German population</i>						
Control	46	58 (63)	34 (37)			

Table 3

Genotype and allele distribution of the 12A/T polymorphism in the 5-HT_{2A} receptor gene in Spanish and British samples of Major Depression, Bipolar Disorder and Controls, and in a German healthy population

	n	Allele frequencies		Genotype frequencies		
		A12 (%)	T12 (%)	A12/A12 (%)	A12/T12 (%)	T12/T12 (%)
<i>Spanish population</i>						
Major depression	176	95 (26.9)	257 (73.1)	7 (4)	81 (46)	86 (50)
Bipolar disorder	88	53 (30.2)	123 (69.8)	7 (8)	39 (44.3)	42 (47.7)
Control	148	78 (26.4)	218 (73.6)	11 (7.4)	56 (37.8)	81 (54.7)
<i>British population</i>						
Major depression	71	23 (16)	19 (84)	2 (3)	19 (27)	50 (70)
Bipolar disorder	118	56 (24)	180 (76)	7 (6)	42 (36)	69 (58)
Control	197	121 (31)	273 (69)	17 (9)	87 (44)	93 (47)
<i>German population</i>						
Control	46	31 (34)	61 (66)			

equal than 2.3 and 3 in major depression and bipolar disorder samples, respectively.

No genotype or allele differences were found when we compared the patients with the controls, or between each patient group (Table 2). The statistical comparisons for the genotype frequencies in the -19G/C polymorphism were: MD vs C: $\chi^2 = 1.05$, $P = 0.59$; BP vs C: $\chi^2 = 1.50$, $P = 0.47$; MD vs BP: $\chi^2 = 2.38$, $P = 0.30$.

The same comparisons were done for the 12A/T polymorphism: MD vs C: $\chi^2 = 3.35$, $P = 0.18$; BP vs C: $\chi^2 = 1.11$, $P = 0.57$; MD vs BP: $\chi^2 = 1.85$, $P = 0.39$.

The haplotype frequencies were equally distributed across the three groups (MD vs C: $\chi^2 = 0.72$, $P = 0.86$; BP vs C: $\chi^2 = 5.98$, $P = 0.112$; MD vs BP: $\chi^2 = 0.61$, $P = 0.89$) (data not shown).

No overall differences were observed when allele or genotype distributions of the polymorphisms were analyzed according to clinical variables (see Table 1) in the sample of patients.

In order to check our results, we compared our allele and genotype frequencies in the control and patient samples with those found by Abarbanell et al. [14] and more recently by Birkett et al. [3]. In our sample of patients, genotype and allele frequencies showed similar variation range than the frequencies reported by Birkett et al. [3] (see Tables 2 and 3 for genotype and allele frequencies). However, when the range of genetic variation in our healthy individuals was compared with control samples of British origin, we found important differences in the frequencies of -19G/C polymorphism (Table 2). However, no differences were observed in the allelic distribution when Spanish and German healthy individuals were compared. Given the Caucasoid origin of these samples, we should not find this kind of differences, because of the European origin of all populations [15]. Differences found between the British controls and the other human populations (Spanish and Germans) made us think that, as

previously suggested by Birkett et al. [3], a problem with control population stratification could exist in their study, and the association described with affective disorders could be a spurious one.

In summary, we did not find evidence for association between variability of the 5-HT_{2A} human receptor gene and affective disorders. Additional studies will be necessary to confirm these results.

This study was supported by a grant from the Ministry of Education and Culture and the Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica PM-98-0184. D.C. was funded by a grant from the Golden Trust. B.A. was awarded by a BE99 grant from the Generalitat de Catalunya, Spain. We also want to thank Roser Guillamat for her collaboration in collection of bipolar sample.

- [1] American Psychiatric Association, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th American Psychiatric Association, Washington, DC, 1994.
- [2] Bierut, L.J., Heath, A.C., Bucholz, K.K., Dinwiddie, S.H., Madden, P.A., Statham, D.J., Dunne, M.P. and Martin, N.G., Major depressive disorder in a community-based twin sample. Are there different genetic and environmental contributions for men and women? *Arch. Gen. Psychiatry*, 56 (1999) 557–563.
- [3] Birkett, J.T., Arranz, M.J., Munro, J., Osbourn, S., Kerwin, R.W. and Collier, D.A., Association analysis of the 5-HT_{2A} gene in depression, psychosis and antipsychotic response, *NeuroReport*, 9(11) (2000) 2017–2020.
- [4] Biver, G., Lotstra, F., Monclus, M., Wikier, D., Damhaut, P., Mendlewicz, J. and Goldam, S., Sex differences in 5HT_{2A} receptor in the living human brain, *Neurosci. Lett.*, 204 (1996) 25–28.
- [5] Cardno, A.G., Marshall, E.J., Coid, B., Macdonald, A.M., Ribchester, T.R., Davies, N.J., Venturi, P., Jones, L.A., Lewis, S.W., Sham, P.C., Gottesman, I.I., Farmer, A.E., McGuffin, P., Reveley, A.M. and Murray, R.M., Heritability estimates for psychotic disorders: the Maudsley twin psychosis series, *Arch. Gen. Psychiatry*, 56(2) (1999) 162–168.

- [6] Dean, A.G., Dean, J.A., Burton, A.H. and Dicker, R.C., Epi Info: a general-purpose microcomputer program for public health information systems, *Am. J. Prev. Med.*, 7(3) (1991) 178–182.
- [7] Gutiérrez, B., Fañanás, L., Arrans, M.J., Vallès, V., Guillaumat, R., van Os, J. and Collier, D., Allelic association analysis of the 5-HT_{2C} receptor gene in bipolar affective disorder, *Neurosci. Lett.*, 212 (1996) 65–67.
- [8] Leonard, B.E., *Fundamentals of Psychopharmacology*, Wiley and Sons, New York, 1997.
- [9] Maes, M. and Meltzer, H.Y., The serotonin hypothesis of major depression, In F.E. Bloom and D.J. Kupfer (Eds.), *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*, Raven Press, New York, 1995, pp. 933–944.
- [10] Murphy, D.L., Neuropsychiatric disorders and the multiple human brain serotonin receptor subtypes and subsystems, *Neuropsychopharmacology*, 3 (1990) 457–471.
- [11] Nishizawa, S., Benkelfat, C., Young, S.N., Leyton, M., Mzengeza, S., de Montigny, C., Blier, P. and Diksic, M., Differences between males and females in rates of serotonin synthesis in human brain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 94 (1997) 5308–5313.
- [12] Risch, N. and Merikangas, K., The future of genetic studies of complex human disease, *Science*, 273 (1996) 1516–1517.
- [13] Schneider, S., Kuefer, J.M., Roessli, D. and Excoffier, L., Arlequin (version 1.0): a software environment for the analysis of population genetics data, *Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva*, 1996.
- [14] Shimrom-Abarbanell, D., Erdmann, J., Vogt, I.R., Bryant, S.P., Spurr, N.K., Knapp, M., Propping, P. and Nothen, M.M., Human 5-HT_{5A} receptor gene: systematic screening for DNA sequence variation and linkage mapping on chromosome 7q34-q36 using a polymorphism in the 5' untranslated region, *Biochem. Biophys. Res. Co.*, 233 (1997) 6–9.
- [15] Simoni, L., Calafell, F., Pettener, D., Bertranpetit, J. and Barbujani, G., Geographic patterns of mtDNA diversity in Europe, *Am. J. Hum. Genet.*, 66(1) (2000) 262–278.
- [16] Siver, L.J., Kahn, R.S., Lawlor, B.A., Trestman, R.L., Lawrence, T.L. and Coccaro, E.F., Critical issues in defining the role of serotonin in psychiatric disorders, *Pharmacol. Rev.*, 43 (1991) 509–525.
- [17] Spitzer, R.L., Williams, J.B.W., Gibbon, M. and First, M.B., *Structured Clinical Interview for DSM-III-R*, American Psychiatric Press, Washington, DC, 1990.

Capítulo 3

**The 5-HT_{2A} receptor gene 102T/C polymorphism is associated with suicidal
behaviour in depressed patients**

B. Arias, C. Gastó, R. Catalán, B. Gutiérrez, L. Pintor, L. Fañanás

American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Section) 105: 801-804
(2001)

RESUMEN:

Diferentes líneas de investigación han sugerido que los factores genéticos podrían jugar un papel importante a la hora de modular el comportamiento suicida. Recientemente, Du y colaboradores han descrito una asociación entre el alelo 102C del polimorfismo 102T/C del gen del receptor 5-HT_{2A} y comportamiento suicida. El objetivo de nuestro estudio fue investigar si la asociación propuesta entre este gen y suicidio podía ser replicada en una muestra independiente y más numerosa de pacientes diagnosticados de depresión mayor investigados para ideación y tentativas de suicidio. El polimorfismo 102T/C del gen HTR2A fue analizado en 159 pacientes y 164 individuos control utilizando un diseño caso-control. Se encontraron diferencias significativas cuando se compararon las frecuencias alélicas ($\chi^2 = 4.13$, $df=1$, $P=0.04$) y genotípicas ($\chi^2 = 6.19$, $df=2$, $P=0.04$) entre pacientes con intentos de suicidio y pacientes sin intentos de suicidio. Los pacientes portadores del alelo 102C presentaban 5 veces más riesgo de presentar tentativas de suicidio a lo largo del episodio depresivo que los no portadores (OR=5.50, 95% CI = 1.18-35.20, $P=0.01$). No se encontraron diferencias cuando las frecuencias del polimorfismo 102T/C fueron analizadas en pacientes y en controles, sugiriendo estos resultados que el incremento del riesgo se relaciona básicamente con el comportamiento suicida pero no con el diagnóstico de depresión mayor.

Rapid Publication

The 5-HT_{2A} Receptor Gene 102T/C Polymorphism Is Associated With Suicidal Behavior in Depressed Patients

Bárbara Arias,¹ Cristóbal Gastó,^{2,3} Rosa Catalán,^{2,3} Blanca Gutiérrez,^{1,4} Luis Pintor,^{2,3} and Lourdes Fañanás^{1*}

¹Unitat d'Antropologia, Departament de Biologia Animal, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

²Centre de Salut Mental Esquerre de l'Eixample, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Barcelona, Spain

³Institut d'Investigació Biomèdica Agustí Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

⁴Fundació Clínic per a la Recerca Biomèdica, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

Several lines of evidence suggest that genetic factors constitute an important determinant of suicidal behavior. A significant association between the 5-HT_{2A}-C allele and suicidality has recently been reported. The aim of this study was to investigate whether the proposed association between 5-HT_{2A}-102T/C polymorphism and suicidality could be replicated in a larger and independent sample of Spanish patients with major depression. The 102T/C polymorphism of the 5-HT_{2A} receptor gene was analyzed in 159 patients with major depression (DSM-IV criteria) and 164 unrelated and healthy controls using a case control design. All individuals were subjects of Spanish origin. Significant differences in allele (chi-square = 4.13, df = 1, $P = 0.04$) and genotype (chi-square = 6.19, df = 2, $P = 0.04$) distributions were found between non-suicide attempters and suicide attempters. Moreover, those patients carrying 5-HT_{2A}-C allele had more than five times the risk for attempting suicide than noncarriers (OR = 5.50, 95% CI = 1.18–35.20, $P = 0.01$). Our results replicate the proposed association between 5HT_{2A}-C allele and suicidality in major depression. Moreover, no overall associations are detected when patients

with major depression and controls are compared for 102T/C frequencies, suggesting that the increased risk for suicidality conferred by 5-HT_{2A}-C allele is primarily associated with suicidal behavior and not with the diagnosis of major depression itself. © 2001 Wiley-Liss, Inc.

KEY WORDS: HTR_{2A}; 102T/C polymorphism; suicide; major affective disorders; association study

INTRODUCTION

Several lines of evidence suggest that genetic factors constitute an important determinant of suicidal behavior [Statham et al., 1998]. Familial studies have revealed that suicidality is significantly more frequent in those subjects with previous family history of suicide [Murphy and Wetzel, 1982; Roy et al., 1999]. Also, recent association genetic studies have described a relationship between certain allelic variants in candidate genes of serotonergic pathway and suicidal behavior in major depression patients [Mann et al., 1997; Du et al., 1999, 2000]. These findings support the hypothesis that genetic factors could modulate the suicide risk by influencing serotonergic activity.

As serotonin uptake and density of 5-HT_{2A} receptors are altered in brain regions of depressed suicide victims [Arango et al., 1990; Hrdina et al., 1993] and in platelets of depressed suicidal subjects [Hrdina et al., 1995], the serotonin 2A receptor gene (HTR_{2A}) is considered a particularly interesting candidate for suicidal behavior. Several authors have recently explored the possible implication of this gene in the origin of major depression and risk for suicide. Whereas results in major depression seem to discard a major

*Correspondence to: Lourdes Fañanás, Unitat d'Antropologia, Departament de Biologia Animal, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain.
E-mail: lourdesf@porthos.bio.ub.es

Received 17 May 2001; Accepted 22 August 2001

DOI 10.1002/ajmg.10099

role of HTR2A in the etiology of depressive disorder [Gutiérrez et al., 1995; Mahieu et al., 1997; Ohara et al., 1998], a significant association between the 5-HT_{2A}-C allele and suicidality has been reported [Du et al., 2000]. This association has not been replicated by other authors [Bondy et al., 2000; Crawford et al., 2000; Preuss et al., 2000]. However, the possible effect of heterogeneity of diagnoses, sample size, ethnic stratification problems, or simply the modest contribution of 5-HT_{2A} receptor gene in suicidality could favor incongruent results and make the association difficult to replicate.

The aim of this study was to investigate whether the association recently described by Du et al. [2000] between 5-HT_{2A}-102T/C polymorphism and suicidality could be replicated in a larger and independent sample of Spanish patients with major depression.

MATERIALS AND METHODS

The sample consisted of 159 unrelated patients with major depression (51 men and 108 women; mean age, 54.86 ± 16.21) from the Mental Health Service of the Eixample district in Barcelona and 162 healthy, unrelated controls (83 men and 81 women; mean age, 41.4 ± 10.35). All individuals were Spanish subjects of Spanish origin, as stated through the birth place of their four grandparents. Both patients and controls provided informed consent prior to their inclusion in the study.

Patients were diagnosed according DSM-IV criteria [American Psychiatric Association, 1994] by experienced clinicians (R.C. and L.P.) who personally interviewed each patient. The Spanish version of the Structural Clinical Interview for DSM-III-R (SCID) [Spitzer et al., 1990] was used for this purpose. Severity of depressive symptoms was evaluated by the 17-item Hamilton Depression Scale (HAMD) [Hamilton, 1970]. The mean Hamilton score at index episode was 25.99 ± 5.57. Patients present an average of 2.70 ± 1.95 episodes during 13.17 ± 11.06 years since symptoms first appeared. Suicidal behavior was analyzed by review of medical records, score on HAMD item 3, and responses to a short SADS-based questionnaire applied to patients and at least two first-degree relatives.

Suicidal ideation was defined by a score of 1 and above on HAMD item 3. One hundred and eight subjects (68%) of the total sample of major depressive patients presented suicidal ideation in their most recent major depressive episode. A suicide attempt was defined as a self-destructive act, with some intent to end one's life, resulting in the need for medical treatment at a

hospital. Thirty-three patients were considered as suicide attempters according to the previous definition. Nine of them presented violent suicide attempts and 24 showed nonviolent suicide attempts. The overall group of suicide attempters (n=33) had made an average of 1.75 ± 0.94 attempts during their lifetime.

Molecular Analysis

Genomic DNA was extracted from blood samples using a standard phenol-chloroform method. The 102T/C polymorphism in 5-HT_{2A} receptor gene was genotyped according to Warren's assay [Warren et al., 1993] based on the polymerase chain reaction and subsequent *MspI* digestion.

Statistical Analysis

Hardy-Weinberg equilibrium for genotype frequencies was tested in both patients and controls using chi-square tests. Simple chi-square tests of independence were also performed to confirm the presence or absence of allele or genotype associations. Odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CI) were estimated for the effects of high-risk genotypes and alleles.

RESULTS

Genotype frequencies for the 102T/C polymorphism at 5-HT_{2A} receptor gene were in Hardy-Weinberg equilibrium in both patients (chi-square=0.05, *P*=0.97) and controls (chi-square=0.02, *P*=0.99). The association analysis showed no overall differences in genotype or allele distributions when patients with major depression (MD) were compared to controls (Table I).

However, the analysis of genetic data according to suicide showed significant differences in allele (chi-square=4.13, *df*=1, *P*=0.04) and genotype (chi-square=6.19, *df*=2, *P*=0.04) distributions between non-suicide attempters and suicide attempters. The association increased when C-allele was considered dominant: 93.9% of patients who had attempted suicide carried the C-allele vs. 73.8% of patients who had never attempted suicide (chi-square=6.17, *df*=1, *P*=0.01; OR=5.50, 95% CI=1.18–35.20).

Among non-suicide attempters, those patients with suicidal ideation (n=77) presented a similar allele distribution to patients with nonsuicidal ideation (n=49; chi-square for allele distributions=0.01, *df*=1, *P*=0.91). However, genotypes were not found to be equally distributed between both groups (chi-square=6.06, *df*=2, *P*=0.05), carriers of C-allele being more

TABLE I. Genotype and Allele Frequencies of the 5-HT_{2A}-102T/C Polymorphism in Patients With Major Depression and Controls

	n	Genotype frequencies (%)			Allele frequencies (%)	
		T102/T102	T102/C102	C102/C102	T102	C102
Major Depression	159	35 (22.0)	81 (50.9)	43 (27.1)	151 (47.5)	167 (52.5)
Suicide attempters	33	2 (6.1)	20 (60.6)	11 (33.3)	24 (36.0)	42 (64.0)
Non-suicide attempters	126	33 (26.2)	61 (48.4)	32 (25.4)	127 (51.0)	125 (49.0)
Controls	164	30 (17.9)	81 (49.3)	53 (32.8)	141 (42.9)	187 (57.1)

5-HT_{2A} Gene and Suicidal Behavior 803

frequent within the group of patients who had never attempted suicide but had suicidal ideation than in the group of non-suicide attempters with no suicidal ideation (78% vs. 67%, respectively).

When we considered not only suicide attempts but a more broad suicidal behavior definition, including patients with suicidal ideation and suicide attempts (subjects with HAMD item 3 of 1 or above) vs. the rest of patients with major depression without suicidal behavior, significant differences in genotype frequencies were observed between both groups (chi-square = 8.50, $df = 2$, $P = 0.01$). Again, an excess of C-allele carriers in the group of patients with the broad suicidal behavior definition was found: 83.3% vs. 66.6% (chi-square = 5.61, $df = 1$, $P = 0.01$; OR = 2.50, 95% CI = 1.08–5.80).

DISCUSSION

In the present study, we confirm in an independent and larger sample the association described by Du et al. [2000] between 5HT_{2A}-C allele and suicidality. Depressed patients carrying the 5-HT_{2A}-C allele had a significant increased risk for suicidal behavior (HAMD item 3 of 1 or above) when compared to those patients who did not carry the C-allele (OR = 2.50, 95% CI = 1.08–5.80, $P = 0.01$). If a narrower definition of suicidality was considered and only subjects who had ever attempted suicide were included in the analysis, we found that allelic and genotypic frequencies significantly differed between the group of suicide attempters and the group of non-suicide attempters. Again, depressed subjects carrying C-allele had a significant increased risk for suicide attempts (OR = 5.50, 95% CI = 1.18–35.20, $P = 0.01$).

No overall associations were detected when patients with major depression and controls were compared for 102T/C frequencies, suggesting that variability in 5-HT_{2A} receptor gene is primarily associated with suicidal behavior and not with the diagnosis of major depression itself. Thus, our results are again in accordance to those reported by Du et al. [2000], supporting an increased risk for suicidality conferred by 5-HT_{2A}-C allele independent of diagnosis. On the other hand, the fact that the association is only detected within the group of patients supports the existence of a genetic and etiological heterogeneity underlying the diagnosis of major depression.

Since the 102T/C polymorphism does not cause a change in amino acid sequence of the 5-HT_{2A} receptor, these results may reflect the effect of a functional polymorphism elsewhere in the gene, which would be in linkage disequilibrium with the 102T/C mutation. It is known that 102T/C polymorphism is in complete linkage disequilibrium with a promoter (-1438G/A) mutation of 5HT_{2A} gene [Spurlock et al., 1998], but the possible functional differences related to -1438G/A variants have still to be clarified. As suggested by Du et al. [2000], the alterations observed in 5-HT_{2A} receptor densities in brain and platelets of depressed suicide victims may be related to mutations in the gene encoding for the 5HT_{2A} receptor protein.

In conclusion, our results support that genetic variability of the 5-HT_{2A} receptor gene increases the risk of suicidal ideation and suicide attempts in major depressive disorder.

ACKNOWLEDGMENTS

Supported by the Universitat de Barcelona (to B.A.), the Ministry of Education and Culture and the Direcció General de Enseñanza Superior e Investigación Científica PM-98-0184 (to L.F.), RED fellowship from Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació, Generalitat de Catalunya (to B.G.), and Premio Fin de Residencia from Hospital Clínic i Provincial de Barcelona (to L.P.).

REFERENCES

- American Psychiatric Association. 1994. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association.
- Arango V, Ernberger P, Marzuk PM. 1990. Autoradiographic demonstration of increased serotonin 5-HT₂ and beta-adrenergic receptor binding sites in the brain of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* 47:1038–1047.
- Bondy B, Kuznik J, Baghai T, Schüle C, Zwanzger P, Minov C, de Jonge S, Rupprecht R, Meyer H, Engel RR, Eisenmenger W, Ackenheil M. 2000. Lack of association of serotonin 2A receptor gene polymorphism (T102) with suicidal ideation. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 96:831–835.
- Crawford J, Sutherland GR, Goldney RD. 2000. No evidence for association of 5-HT_{2A} receptor polymorphism with suicide. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 96:879–880.
- Du L, Faludi G, Palkovits M, Demeter E, Bakish D, Lapierre YD, Sotonyi P, Hrdina PD. 1999. Frequency of long allele in serotonin transporter is increased in depressed suicide victims. *Biol Psychiatry* 46:196–201.
- Du L, Bakish D, Lapierre YD, Ravindran AV, Hrdina PD. 2000. Association of polymorphism of serotonin 2A receptor gene with suicidal ideation in major depressive disorder. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 96:56–60.
- Gutiérrez B, Arranz MJ, Fañanás L, Vallés V, Guillaumat R, Van Os J, Collier D. 1995. 5HT_{2A} receptor gene and bipolar affective disorder. *Lancet* 346:969.
- Hamilton M. 1970. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 23:51–56.
- Hrdina PD, Demeter E, Vu TB, Sotonyi P, Palkovits M. 1993. 5-HT uptake sites and 5-HT₂ receptors in brain of antidepressants-free suicide victims/depressive: increase in the 5-HT₂ sites in cortex and amygdala. *Brain Res* 614:37–44.
- Hrdina PD, Bakish D, Ravindran A, Chudzik J, Cavazzoni P, Lapierre YD. 1995. Serotonergic markers in platelet of patients with major depression: up-regulation of 5-HT₂ receptors. *J Psychiatr Neurosci* 20:11–19.
- Mahieu B, Sourey D, Lipp O, Mendelbaum K, Verheyen G, De Maertelaer V, Van Broeckhoven C, Mendlewicz J. 1997. No association between bipolar affective disorder and a serotonin receptor (5-HT_{2A}) polymorphism. *Psychiatry Res* 70:65–69.
- Mann JJ, Malone KM, Nielsen DA, Goldman D, Erdos J, Gelernter J. 1997. Possible association of a polymorphism of the tryptophan hydroxylase gene with suicidal behaviour in depressed patients. *Am J Psychiatry* 154:1451–1453.
- Murphy GE, Wetzel RD. 1982. Family history of suicidal behaviour among suicide attempters. *J Nerv Mental Dis* 170:86–90.
- Ohara K, Nagai M, Toshio T, Kunihiko T, Suzuki Y, Ohara K. 1998. 5-HT_{2A} receptor gene promoter polymorphism -1438G/A and mood disorders. *Neuroreport* 9:1139–1141.
- Preuss UW, Koller G, Bahlmann M, Soyka M, Bondy B. 2000. No association between suicidal behaviour and 5-HT_{2A}-T102C polymorphism in alcohol dependents. *Am J Med Genet (Neuropsychiatr Genet)* 96:877–878.

804 Arias et al.

- Roy A, Nielsen D, Rylander G, Sarchiapone M, Segal N. 1999. Genetics of suicide in depression. *J Clin Psychiatry* 60(suppl 2):12-17.
- Spitzer RL, Williams JBW, Gibbon M, First MB. 1990. Structured clinical interview for DSM-III-R. Washington, DC: American Psychiatric Press.
- Spurlock G, Heols A, Holmans P, Williams J, D'souza UM, Cardno A, Murphy KX, Jones L, Buckland PR, McGuffin P, Lesch KP, Owen MJ. 1998. A family based association study of T102C polymorphism in 5-HT_{2A} and schizophrenia plus identification of new polymorphisms in the promoter. *Mol Psychiatry* 3:42-49.
- Statham DJ, Heath AC, Madden PAF, Bucholz KK, Bierut L, Dinwiddie SH, Slutske WS, Dunne MP, Martin NG. 1998. Suicidal behaviour: an epidemiological and genetic study. *Psychol Med* 28:839-855.
- Warren JT, Peacock ML, Rodriguez LC, Fink JK. 1993. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (5HTR2): detection by DGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet* 2:338.

Capítulo 4

Analysis of structural polymorphisms and C-1018G promoter variant of the 5-HT_{1A} receptor gene as putative risk factors in major depression

B. Arias, M.J. Arranz, C. Gastó, R. Catalán, L. Pintor, B.Gutiérrez, R.W. Kerwin, L.

Fañanás

Molecular Psychiatry 7: 930-932 (2002)

(Scientific Correspondance)

RESUMEN:

Alteraciones en el sistema serotoninérgico han sido relacionadas con el origen de la depresión mayor. El gen del receptor de serotonina 1A es un gen candidato de alto interés debido al papel que juega en la respuesta a antidepresivos y en el control de la liberación de serotonina al espacio intersináptico. Alteraciones genéticas en este gen HTR1A podrían estar relacionadas la función de este receptor en la depresión. Una muestra de 249 pacientes con depresión mayor (DSM-IV) y de 170 individuos control, todos de origen español, fue analizada para 3 polimorfismos de tipo estructural (Ile28Val, Asp272Gly, Pro16Leu) y un polimorfismo localizado en la zona promotora del gen (C-1018G). Las frecuencias alélicas y genotípica se encontraban dentro de los valores previamente descritos para población europea. No se encontraron diferencias ni en las distribuciones alélicas ni en las genotípicas cuando fueron comparadas entre pacientes y controles. Nuestros resultados sugieren que la variabilidad genética asociada al gen del receptor 5-HT_{1A} no parece jugar un rol importante en la etiología de la depresión mayor.

Analysis of structural polymorphisms and C-1018G promoter variant of the 5-HT_{1A} receptor gene as putative risk factors in major depression

Molecular Psychiatry (2002) 7, 930–932. doi:10.1038/sj.mp.4001146

SIR – Alterations in the serotonergic system have been related to the origin of depression. The serotonin 1A receptor gene is a strong candidate for major depression because of involvement in antidepressant response and control of intersynaptic serotonin release. Genetic alterations in the 5-HT_{1A} gene may be related

to the receptor involvement in depression. A sample of 249 patients with major depression and 170 controls were analysed for four different polymorphisms of the 5-HT_{1A} receptor gene. No differences in genotype or allele frequencies were found between patients and controls. Our results suggest that genetic variability in the 5-HT_{1A} receptor gene does not play a major role in the aetiology of major depression.

Serotonin neurotransmission is involved in the regulation of mood, sleep, vigilance, memory and learning, feeding and sexual behaviour. All those functions have found to be altered to varying extents in depressed patients. The serotonin 1A receptor has been postulated as playing a major role in anxiety, depression and other psychiatric disorders.¹ This receptor regulates the firing of serotonergic neurones and mediates the action of non-serotonergic neurones prominently in the limbic regions.² Moreover, the 5-HT_{1A} receptor has been hypothesised to have an important role in the modulation of clinical response to antidepressant drugs. Long-term treatment with SSRIs desensitises the somatodendritic 5-HT_{1A} receptors leading to an enhanced release of serotonin.³ In addition, it has been reported that a combination of SSRI drugs and blockade of these receptors may accelerate the therapeutic efficacy in depressive patients.⁴ All these facts lead us to consider the 5-HT_{1A} receptor gene as a good candidate gene for association studies in major depression. The 5-HT_{1A} receptor gene (chromosome 15q11) is intronless and codes a 422-amino acid protein.⁵ A number of low frequency single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been described on this gene.^{6,7} Previous association studies investigating the putative role of the 5-HT_{1A} receptor gene in schizophrenia and major depression have failed to demonstrate any relation between these polymorphisms and the disorders.^{6–8}

Recently, a novel and relatively common polymorphism (C-1018G) that may provide useful information on the involvement of this receptor gene in mental disorders, has been described on the promoter region of the 5-HT_{1A} receptor gene.⁹

We hypothesised that genetic variation in the 5-HT_{1A} receptor gene could be involved in the aetiology of major depression or in clinical features related to this complex disorder. To test this hypothesis, we have performed individual association studies of the novel promoter region polymorphism C-1018G and three previously reported structural polymorphisms (Ile28Val, Asp272Gly, and Pro16Leu) in a large sample of depressive patients.

Two hundred and forty-nine unrelated patients (64 men and 185 women; mean age: 46.6 ± 10.09) with major depression from the Mental Health Service of the Eixample District (Barcelona, Spain) were included in the study. Major depression was diagnosed according to DSM-IV¹⁰ criteria and the Spanish version of the Structural Clinical Interview for DSM-III-R (SCID) was used for this purpose.¹¹

One hundred and seventy healthy individuals (89 males and 81 females; mean age: 38.2 ± 10.35) were recruited as controls. Patients and control subjects

Table 1 Genotype and allele frequencies distribution of the 5-HT_{1A}C-1018G polymorphism in patients with major depression and controls

	n	Genotype frequencies (%)			Allele frequencies (%)	
		G1018/G1018	G1018/C1018	C1018/C1018	G1018	C1018
Major depression	249	71 (28.5)	124 (49.8)	54 (21.7)	266 (53.4)	232 (46.6)
Controls	170	44 (25.9)	94 (55.3)	32 (18.8)	182 (53.5)	158 (46.5)
		$\chi^2 = 1.24$, $df = 2$, $P = 0.53$			$\chi^2 = 0.00$, $df = 1$, $P = 0.97$	

were matched to the same geographic area through the birthplace of their grandparents. Both patients and controls provided written informed consent prior to their inclusion in the study.

Genomic DNA was extracted from blood samples using standard techniques. Four polymorphisms were analysed: (i) Asp272Gly (coding region); (ii) Ile28Val (extracellular amino terminal domain); (iii) Pro16Leu (extracellular amino terminal domain); and (iv) C-1018G (promoter region). The three first polymorphisms were genotyped according to the protocols described previously.^{6,7} New mutagenic primers and PCR conditions were designed for the genotypic characterisation of the C-1018G polymorphism. PCR amplification was performed with the following primers: 5'TGG AAG AAG ACC GAG TGT GTC TAC 3' and 5'TTC TCC CTG GGA GAG TAA GGC TGG 3'. The reaction mix contained 100 ng of DNA, 1.5 mM of MgCl₂, 200 μ M of each dNTP, 1 μ M of primer and 0.5 U of BioTaq Polymerase (Bioline, UK) in a final volume of 25 μ l. Thirty-five cycles of 45 s at 95°C, 45 s at 56°C and 45 s at 72°C were performed, followed by a final step of 10 min at 72°C. A final PCR product of 182 bp was obtained. PCR products were digested using 4 U of Hpy CH4IV restriction enzyme (New England BioLabs) and the digested fragments were separated on 4% agarose gels. The restriction pattern was: C-1018 182 bp; G-1018 158 bp and 24 bp. Randomised individuals were re-tested for their genotype, confirming that enzyme digestion was complete and the digestion pattern was reproducible.

Genotype frequencies were in Hardy-Weinberg equilibrium in patients ($\chi^2 = 0.0$, $df = 2$, $P = 1.0$) and controls ($\chi^2 = 0.96$, $df = 2$, $P = 0.62$). Association studies were performed using χ^2 tests to compare cases and controls and to confirm the presence or absence of allele or genotype associations. No statistical comparison can be performed with the coding region polymorphisms Gly272Asp, Ile28Val, Leu16Pro, as a result of their low frequencies in our Spanish samples. Only two control individuals were found to be heterozygous for the Ile28Val polymorphism. No subjects carrying the rare allele of the Gly272Asp and Leu16Pro polymorphisms were found.

When we analysed genotype and allele distribution for the C-1018G polymorphism, no differences were

found between patients with major depression and controls (genotype comparison; $\chi^2 = 1.24$, $df = 2$, $P = 0.53$; allele comparison; $\chi^2 = 0.00$, $df = 1$, $P = 0.97$) (see Table 1 for genotype and allele frequencies). The combined study group had more than 80% power to detect an allelic or genotypic association (odds ratio ≥ 1.8) given the C-1018G allele frequencies in the general population.

Seasonal course, melancholy, suicidal behaviour or presence of psychotic symptoms were also analysed taking into account that previous studies have related genetic variation in other serotonergic genes such as SERT (serotonin transporter) or 5-HT_{2A} with these clinical features¹²⁻¹⁴. However, no association was found between the 5-HT_{1A} polymorphisms and those clinical variables in our sample (data not presented).

Despite the fact that no positive results have been found in our study, it is possible that the 5-HT_{1A} receptor gene plays a minor role in major depression which can not be detected due to our sample size. In that case, a much larger study group would be required to establish the possible gene effect. Certainly, the 5-HT_{1A} receptor is likely to have some consequences for mental disorders due to the implication in the actions of antidepressant clinical treatments as well as in the control of the intersynaptic serotonin release. Although the genetic variants found in the 5-HT_{1A} gene are not determinant on the receptor function or action, this neither excludes this receptor as an important factor in the aetiology of major depression, nor confirms it.

Summarising, our results suggest that genetic variation in the 5-HT_{1A} is not a major risk factor for major depression or clinical features related to the disease.

B Arias¹, MJ Arranz², C Gasto^{2,3}, R Catalan^{2,3}, L Pintor^{2,3}, B Gutierrez¹, RW Kerwin⁴ and L Fananas¹

¹Unitat d'Antropologia, Departament de Biologia Animal, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain; ²Centre de Salut Mental Esquerre de l'Eixample, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Spain; ³Institut d'Investigació Biomèdica Agustí Pi i Sunyer (IDIBAPS); ⁴Clinical Neuropharmacology, Division of Psychological Medicine, Institute of Psychiatry, London, UK

Correspondence should be addressed to L Fananas. E-mail: mailto:jour-desf@porthos.bio.uh.es



- 1 Hammon M. In: Baumgartner HG, Gethert M (ed). *Serotonergic Neurons and 5HT Receptors in the CNS*. Springer: Heidelberg, 1997, pp 239-268.
- 2 Dubovsky SL, Thomas M. *J Clin Psychiatry* 1995; **55** (Suppl): 38-48.
- 3 Artigas F et al. *Trends Neurosci* 1996; **19**: 378-383.
- 4 Zanardi R et al. *J Clin Psychopharmacol* 1997; **17**: 446-450.
- 5 Kobilka BK et al. *Nature* 1987; **329**: 75-79.
- 6 Kawanishi Y et al. *Am J Med Gen (Neuropsych Genet)* 1998; **81**: 434-439.
- 7 Erdmann J et al. *Am J Med Gen* 1995; **60**: 393-399.
- 8 Serretti A et al. *Am J Med Genet* 2000; **96**: 161-166.
- 9 Wu S, Comings DE. *Psychiatr Genet* 1999; **9**: 105-106.
- 10 American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th edn. American Psychiatric Association: Washington, DC, 1994.
- 11 Spitzer RL et al. *Structured Clinical Interview for DSM-III R*. American Psychiatric Press: Washington DC, 1990.
- 12 Gutierrez B et al. *Hum Genet* 1998; **103**: 319-322.
- 13 Arias B et al. *Mol Psychiatry* 2001; **6**: 239-242.
- 14 Arias B et al. *Am J Med Genet* 2001; **105**: 801-805.



ERRATUM

Analysis of structural polymorphisms and C-1018G promoter variant of the 5-HT_{1A} receptor gene as putative risk factors in major depression

B Arias, MJ Arranz, C Gasto, R Catalan, L Pintor, B Gutierrez, RW Kerwin and L Fananas

Molecular Psychiatry (2003) 8, 246. doi:10.1038/sj.mp.4001302

Correction to: *Molecular Psychiatry* (2002) 7, 930–932. doi: 10.1038/sj.mp.4001146

Table 1 from the above paper was published incorrectly. A revised version of the table is given below.

Table 1 Genotype and allele frequencies distribution of the 5-HT_{1A}C-1018G polymorphism in patients with major depression and controls

	N	Genotype frequencies (%)			Allele frequencies (%)	
		C1018/C1018	C1018/G1018	G1018/G1018	C1018	G1018
Major depression	249	71 (28.5)	124 (49.8)	54 (21.7)	266 (53.4)	232 (46.6)
Controls	170	44 (25.9)	94 (55.3)	32 (18.8)	182 (53.5)	158 (46.5)
		$\chi^2=1.24$, df=2, P=0.53			$\chi^2=0.00$, df=1, P=0.97	

b. Farmacogenética de la depresión: ISRS

Capítulo 5

5-HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene predicts non-remission in major depression patients treated with citalopram in a 12-weeks follow up study

B. Arias, R. Catalán, C. Gastó, B. Gutiérrez, L. Fañanás

Journal of Clinical Psychopharmacology 23(6)(2003)

RESUMEN:

En el contexto de un estudio longitudinal, se ha analizado la posible implicación del polimorfismo 5-HTTLPR, localizado en la zona promotora del gen del transportador de serotonina, en la respuesta clínica y la remisión de un episodio de depresión mayor tratado con citalopram. La muestra estuvo formada por 131 pacientes, todos ellos de origen español, diagnosticados según criterios clínicos DSM-IV que presentaban un episodio depresivo mayor en fase activa. Se utilizó la escala de Hamilton para Depresión de 21 ítems (HDRS: *Hamilton Depresión Rating Scale*) para evaluar la severidad de los síntomas al inicio y a lo largo del seguimiento y para determinar los criterios clínicos de respuesta y remisión a la cuarta y a la duodécima semana, respectivamente. Nuestros resultados pusieron de manifiesto que el genotipo S/S del polimorfismo 5-HTTLPR estaba asociado con la condición de no-remisión a la semana 12 ($\chi^2= 8.7$, $P=0.013$). Por otra parte, los individuos homocigotos para el alelo S, presentaban tres veces más riesgo de no alcanzar la remisión del episodio depresivo después de un tratamiento con citalopram durante 12 semanas que los pacientes portadores de cualquier otra combinación genotípica ($\chi^2= 7.29$, $P=0.006$; OR=3.23 [95%IC: 1.24-8.5]). En conclusión, nuestros resultados muestran que la variación genética del transportador de serotonina está involucrada en la remisión clínica de un episodio depresivo mayor después de doce semanas de tratamiento con citalopram.

ORIGINAL CONTRIBUTION

5-HTTLPR Polymorphism of the Serotonin Transporter Gene Predicts Non-Remission in Major Depression Patients Treated With Citalopram in a 12-Weeks Follow Up Study

Bàrbara Arias, BSc,* Rosa Catalán, PhD, MD,†§ Cristóbal Gastó, PhD, MD,†§
Blanca Gutiérrez, BSc, PhD,*† and Lourdes Fañanás, BSc, PhD, MD*

Abstract: In the context of a long term follow-up study, we analysed the possible implication of the 5-HTTLPR polymorphism at the serotonin transporter gene in clinical response and remission of major depressive patients treated with citalopram. The sample consisted of 131 patients, all of Spanish origin, diagnosed according to DSM-IV criteria. A 21-item Hamilton Depression Rating Scale (HDRS) was used to evaluate severity of the symptoms during the follow-up and to determine clinical response and remission condition of the patients at 4th and 12th week, respectively. Our results showed that S/S genotype of the 5-HTTLPR polymorphism was associated with the non-Remission condition at 12th week ($\chi^2 = 8.7$, $P = 0.013$). Moreover, homozygous for the allele S presented three times more risk for non reaching remission of depressive episode after citalopram treatment than patients with any other 5-HTTLPR genotype combination (χ^2 : 7.29, $P = 0.006$; OR = 3.23 [95% CI: 1.24–8.5]). In conclusion, our results show that genetic variation of serotonin transporter is involved in clinical remission of major depressive episodes after twelve weeks of citalopram treatment.

(*J Clin Psychopharmacol* 2003;23:1–5)

Clinical response to drug treatment in depression is a complex psychological and biological phenomenon in which several factors, some of them with a genetic origin, are involved. Selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs) have been developed as drugs with high selectiveness for their

molecule target, and have constituted the most relevant advance for the pharmacological treatment of depression in the general practice setting during the last years.¹ However, SSRIs present some disadvantages, including a delay of 2 or 3 weeks before the first effects in clinical response become evident.^{2,3} In this sense, there is consensus that optimal antidepressant-induced improvement of depression symptoms is slow, taking 6–12 weeks to occur.^{4,5} Among SSRIs, citalopram has been distinguished by being the most selective inhibitor of the serotonin transporter molecule.⁶ Its capability of inhibiting serotonin re-uptake without appreciably inhibiting the uptake of noradrenaline or dopamine makes it a perfect target in pharmacogenetic studies.⁷

Pharmacogenetics investigate the individual possible genetic factors involved in the response to clinical drug treatment, including those factors related to drug absorption and metabolism, and those related to number, function and morphology of receptor targets.^{8,9} Arranz and colleagues¹⁰ have recently pointed out the importance of these studies in psychiatry. They reported a high level of response prediction (76.86%) to clozapine treatment in schizophrenic patients when they combined different genotype variants of several genes including 5HT2A, 5HT2C and serotonin transporter gene. This study revealed the importance of pharmacogenetic studies as a useful tool for the individualisation of pharmacological treatment in mental disorders.

Recently, some excitement was caused by reports on major depression and serotonin transporter gene (SLC6A4) polymorphisms and their influence on the clinical response to SSRIs antidepressants such as fluvoxamine, fluoxetine or paroxetine^{11–17} (see Serretti et al¹⁸ and Mancama et al¹⁹ for extensive reviews). Most of these studies showed that variability on the promoter region of this gene is involved in 6-week clinical response to the aforementioned SSRIs.^{11–13,15} Among these, only Pollock et al¹⁴ and Rausch et al¹⁶ presented data on clinical outcome of patients in a twelve weeks follow up but none of them use the status of remission as a criteria of clinical response. On the other hand, a study on Korean population¹⁷

*Unitat d'Antropologia, Departament de Biologia Animal, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, 08028 Barcelona; †Fundació Clínic per a la Recerca Biomèdica, Universitat de Barcelona; ‡Centre de Salut Mental Esquerre de l'Eixample, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona; §Institut d'Investigació Biomèdica Agustí Pi i Sunyer (IDIBAPS).

Address correspondence and reprint requests to Lourdes Fañanás, BSc, PhD, MD, Unitat d'Antropologia, Departament de Biologia Animal, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain. E-mail: lourdesf@bio.ub.es.

Copyright © 2003 by Lippincott Williams & Wilkins

ISSN: 0271-0749/03/2306-0000

DOI: 10.1097/01.jcp.0000095350.32154.73

has shown an association between serotonin transporter and clinical response but in the opposite direction as all the previous studies. These opposite associations may reflect linkage of these polymorphisms to an additional variant important in gene regulation.²⁰

The serotonin transporter is encoded by a single gene (SLC6A4) on chromosome 17q11.1–17q12. Two common polymorphisms have been described in this gene: a variable number of tandem repeats (VNTR) in intron 2, and an insertion/deletion variant (5-HTTLPR) placed on the promoter region. Both polymorphisms have no influence on the structure of the protein but might have important influence on the regulation of gene expression, particularly the 5-HTTLPR polymorphism, whose short variant, allele 484, reduces the transcriptional efficiency of the gene, resulting in decreased serotonin transporter expression in the neuron.²¹ This reduced efficiency of SLC6A4 gene has been considered as a hypothetical factor that could modify the clinical response to drugs that have this receptor as a target protein.

In the present work, we performed a twelve weeks follow up study in a sample of major depressive patients treated with citalopram in order to evaluate the role of the SLC6A4 promoter polymorphism (5-HTTLPR) in clinical response and remission after pharmacological treatment.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Our sample consisted of 131 depressive outpatients (31 males and 100 females) from the Centre de Salut Mental Esquerre de l'Eixample (Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Spain) and 163 healthy and unrelated controls from the same geographic and ethnic origin as the patients (83 males and 80 females). Patients were recruited between 1999 and 2002 and followed during, at least, twelve weeks by experienced psychiatrists. At the time of inclusion in the study, all patients suffered an active episode of major depression diagnosed following DSM-IV criteria (A.P.A. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 1994). No bipolar I or II subjects were included in this sample. All cases were diagnosed using the Spanish version of the Structural Clinical Interview according to DSM-IV criteria (SCID).^{22,23} On average, patients were 39.96 years old (SD = 12.27) and presented a mean age of onset for the first depressive episode of 31.46 (SD = 10.84).

All patients were treated with citalopram (mean initial dose: 26.4; range: 20–40 mg/day). Prior to their inclusion in the study, a 2-weeks-wash-out was performed on those patients who were being treated with different drugs. Plasma levels of citalopram and its first metabolite, desmethylcitalopram (DCT), were measured at 6th week by high performance liquid chromatography²³ in order to test treatment compliance. On average, patients showed mean 6-weeks plasma

levels of citalopram of 58.31 ng/ml (SD = 33.24) and DCT of 28.85 ng/ml (SD = 15.82).

An initial 21-item Hamilton Depression Rating Scale (HDRS)²⁴ was used to evaluate clinical severity of the major depressive episode. The mean value (\pm SD) for the HDRS index in the total sample was 24.86 \pm 4.74. A new HDRS was assessed to all patients every 4 weeks until completion of the follow-up at week 12. A positive clinical response to citalopram treatment was considered when a decrease of at least 50% in the baseline HDRS score was observed at 4th week.²⁵ Remission for the index episode was considered when HDRS scores were equal or under 7 by the end of week 12 (as established by Frank et al.²⁶).

Ethical approval was obtained from local research ethic committees. Patients provided written informed consent before inclusion in the study.

Molecular Analysis

Genomic DNA was extracted from blood samples using a standard phenol-chloroform method. The 5-HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene was analysed in our sample using the protocol previously described by Lesch et al.²¹

Statistical Analysis

Hardy-Weinberg equilibrium for genotype frequencies in patients and control samples were calculated using χ^2 tests. Both samples were found to be in equilibrium (major depression sample: $\chi^2 = 0.06$, $P = 0.96$; control sample: $\chi^2 = 0.05$, $P = 0.97$). Different patient subgroups defined according to response and remission criteria were also found in equilibrium (data not shown).

Simple χ^2 tests of independence were performed to confirm the presence or absence of allele or genotype associations. Odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CI) were estimated for the effects of high-risk genotypes and alleles. The combined study group had more than 80% power (95% CI) to detect risks equal or greater than 2 (odds ratio ≥ 2) given the 5-HTTLPR allele frequencies in the general population.

In order to test effects of genotype groups a two-way repeated-measures ANOVA on HDRS scores was performed. All HDRS observations took along the follow up were used to calculate the ANOVA test.

RESULTS

The overall genetic association analysis showed no differences in genotype ($\chi^2 = 1.4$, $df = 2$, $P = 0.49$) or allele distributions ($\chi^2 = 1.14$, $P = 0.28$) when patients with major depression were compared to controls (Table 1).

In terms of clinical response to citalopram at 4th week, the whole sample of 131 patients were classified according to the criteria established by Baumann et al.²⁵ In this sense, 89 patients (68%) were classified as Responders (Rp) and 42

TABLE 1. Distribution of the Genotypes of the 5-HTTLPR Polymorphism in 131 Major Depression Patients and in 163 Healthy Controls

	n	Genotype distribution (%)			Carriers S/S distribution (%)	
		L/L	L/S	S/S	L/—	S/S
Control population	163	41 (25.2%)	84 (51.5%)	38 (23.3%)	125 (76.7%)	38 (23.3%)
Patients with major depression episode	131	41 (31.3%)	63 (48.1%)	27 (20.6%)	104 (79.4%)	27 (20.6%)
Responders at 4th week	89	30 (33.7%)	41 (64.1%)	18 (20.2%)	71 (79.8%)	18 (20.2%)
Non-Responder at 4th week	42	11 (26.2%)	22 (52.4%)	9 (21.4%)	33 (78.6%)	9 (21.4%)
		$\chi^2 = 0.77$, $df = 2$, $P = 0.68$			$\chi^2 = 0.03$, $df = 1$, $P = 0.87$	
Remission at 12th week	91	28 (30.8%)	50 (54.9%)	13 (14.3%)	78 (85.7%)	13 (14.3%)
Non-Remission at 12th week	40	13 (32.5%)	13 (32.5%)	14 (35%)	26 (65%)	14 (35%)
		$\chi^2 = 8.7$, $df = 2$, $P = 0.01$			$\chi^2 = 7.89$, $df = 1$, $P = 0.006$ OR = 3.23 IC95% [1.24–8.5]	

Patient subgroups were defined after considering clinical response at 4th week and remission at 12th week. A significant increase of S/S genotype was detected in the group of non remission ($\chi^2 = 7.29$, $P = 0.006$; OR = 3.23 IC95% [1.24–8.5]).

(32%) as Non Responders (N-Rp). Genotype distribution for the 5-HTTLPR polymorphism showed no significant differences between Rp and N-Rp ($\chi^2 = 0.77$, $P = 0.68$). No significant differences between both subgroups of patients in the distribution of homozygous S/S versus allele L carriers were found either ($\chi^2 = 0.03$, $P = 0.87$) (See Table 1). Moreover, no statistical differences were found when we compared allele or genotype distributions in Rp and N-Rp with the control population.

Plasma levels of citalopram and DCT at 6th week were calculated according to response/non response criteria. Our data showed that the mean citalopram plasma level at 6th week was 55.8 ng/ml \pm 24.07 in Rp and 44.6 ng/ml \pm 29.22 in N-Rp ($f = 4.01$, $P = 0.05$). Concerning DCT, the mean DCT plasma level was 30.9 ng/ml \pm 16.48 in Rp and 21.7 ng/ml \pm 12.21 in N-Rp ($f = 6.45$, $P = 0.01$). No differences among genotypes in citalopram plasma levels were found in Rp ($f = 1.68$, $P = 0.19$) or N-Rp ($f = 2.59$, $P = 0.09$). For DCT plasma levels non significant differences were found among the three genotype combinations in the Rp group ($f = 6.45$, $P = 0.06$); slight differences were found in the N-Rp group ($f = 4.13$, $P = 0.03$). Although it exists differences for the DCT plasma levels, it should be taken into account that this metabolite presents 10-fold lower potency than the parent compound (citalopram) for inhibiting the serotonin transporter and that its concentrations in human serum are usually 30–50% those of citalopram.²⁷

On the other hand, patients were classified as being in Remission (HDRS \leq 7) or in Non Remission (HDRS > 7) taking into account the HDRS scores at twelfth week. According to this, 91 patients (69.4%) were in Remission (Rm) and 40 patients (30.6%) in Non-Remission (N-Rm) at the end of the twelve weeks of pharmacological treatment. A significant increase of the S/S genotype in the N-Rm group was

found in comparison to the Rm group (35% vs 14.3%, respectively; $\chi^2 = 8.7$, $P = 0.013$). Indeed, subjects with the S/S genotype showed 3-times more risk of non-remission after 12 weeks of citalopram treatment than patients who did not carry this genotype ($\chi^2 = 7.29$, $P = 0.006$; OR = 3.23 (95% CI: 1.24–8.5)) (Table 1). The percentage of variance of the non remission phenotype associated to S/S genotype, or attributable risk, was 40.5%. No differences were found when we compared genotype and allele frequencies of patients in Rm and patients in N-Rm with Controls (Table 1).

On average, plasma levels of citalopram at 6th week in the Rm group were 53.6 ng/ml \pm 22.8 and 52.6 ng/ml \pm 33.69 in N-Rm patients ($f = 0.03$, $P = 0.86$). The mean value for DCT was 28.7 ng/ml \pm 14.76 in Rm group and 28.04 ng/ml \pm 18.9 in N-Rm group ($f = 0.03$, $P = 0.86$). No differences were found when comparing plasma levels of citalopram and DCT according to genotype distribution in the Rm group (for citalopram: $F = 0.72$, $P = 0.48$; for DCT: $F = 0.53$, $P = 0.95$), neither in the N-Rm group (for citalopram: $F = 0.95$, $P = 0.40$; for DCT: $F = 2.76$, $P = 0.09$).

On the contrary to previous studies,^{11–13} in our sample the presence of the L copy of the 5-HTTLPR was not associated with a favourable and faster clinical response measured by HDRS scores. A two-way repeated-measures ANOVA of HDRS scores (with time as the within subjects factor and genotype as the between subjects factors and citalopram levels as a covariate) showed that there was no significant effect of genotype in the outcome along the 12 weeks of citalopram treatment ($f = 0.994$, $P = 0.373$).

DISCUSSION AND CONCLUSION

Our results showed that genetic variation in 5-HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene clearly contributes to predict clinical remission at 12 week of a major

depression episode treated with citalopram. Although a previous study based on late life depression patients treated with paroxetine and nortryptiline during three months could not find any influence of serotonin transporter gene on remission,¹⁴ these negative results could be related to the particular features of major depression in elderly patients or simply because of the small sample size of the study.

On the other hand, no association was found when we compared genotype distributions for 5-HTTLPR polymorphism between Rp and N-Rp at 4th week. The fact that genetic variation of the serotonin transporter could predict clinical remission but not short time clinical response suggest that four weeks is not enough time to classify patients and predict their clinical outcome. The results seem to confirm what general clinical practice shows: improvement of depressive symptoms induced by antidepressant drugs is slow, taking 6–12 weeks to occur.⁴

In fact, our long-term study design permitted us to detect that, at least in our sample, there was not a clear predictable individual correspondence between clinical response at the week 4 and remission condition of the patients at week 12. In our study, the 30.5% of the individuals were *misclassified* when we considered the response criteria and the finally remission criteria; 14.5% were *false responders* (initially classified as Rp at week 4 but in N-Rm at week 12) and a 16% of the patients were considered *partial responders* (initially classified as N-Rp at week 4 but in Rm at week 12). These *misclassified* patients could confound pharmacogenetic and pharmacological results obtained in short term studies; *false responders* may present a fast diminution on HDRS scores not induced by the antidepressant drug but by a strong placebo effect,^{28,29} and the *partial responders* group probably need more than four weeks to benefit from pharmacological treatment. Thus, 4–6 week clinical treatment seems to be a short time in order to detect real pharmacological treatment effectiveness and clinical response in patients.

On the other hand, we cannot replicate previous study results in which a specific genotype was associated with a favourable and faster clinical response measured by HDRS scores.^{11–13} Some differences among the study designs, such as clinical origin of the patients (inpatients *versus* outpatients), temporal HDRS assessment or time of follow up may explain some of the discrepancies in final results. Although the differences in study protocols, all of them confirm the importance of serotonin transporter molecule in regulation of clinical response to SSRI antidepressants.

In conclusion, our results suggest that allelic variation within the promoter of serotonin transporter gene is associated with citalopram efficacy in terms of remission of a major depression episode. Although other factors are likely to be implicated, genotyping of this region may constitute a promising tool to individualise the pharmacological treatment of depression.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by a grant from the *Fondo de Investigaciones Sanitarias*, FIS 00-0613, Spain. Bárbara Arias was awarded by a grant from the *Universitat de Barcelona*. Dr. Blanca Gutiérrez has a RED fellowship from *Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació, Generalitat de Catalunya*.

Authors want to thank Dr. Luis Pintor and Dr. Maria Luisa Imaz for their collaboration in clinical data collection.

Our special gratitude to patients and their families for their generosity.

REFERENCES

- Martin RM, Hilton SR, Kerry SM, et al. General practitioners' perceptions of the tolerability of antidepressant drugs: a comparison of selective serotonin reuptake inhibitors and tricyclic antidepressants. *Bmj*. 1997;314:646–651.
- Gelenberg AJ, Chesen CL. How fast are antidepressants? *J Clin Psychiatry*. 2000;61:712–721.
- Quitkin FM, Liebowitz MR, Stewart JW, et al. l-Deprenyl in atypical depressives. *Arch Gen Psychiatry*. 1984;41:777–781.
- Frazer A, Benmansour S. Delayed pharmacological effects of antidepressants. *Mol Psychiatry*. 2002;7(Suppl 1):S23–28.
- Doris A, Ebmeier K, Shajahan P. Depressive illness. *Lancet*. 1999;354:1369–1375.
- Baumann P. Pharmacology and pharmacokinetics of citalopram and other SSRIs. *Int Clin Psychopharmacol*. 1996;11(Suppl 1):5–11.
- Baumann P, Rochat B. Comparative pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors: a look behind the mirror. *Int Clin Psychopharmacol*. 1995;10(Suppl 1):15–21.
- Roses AD. Pharmacogenetics and future drug development and delivery. *Lancet*. 2000;355:1358–1361.
- Steimer W, Muller B, Leucht S, et al. Pharmacogenetics: a new diagnostic tool in the management of antidepressant drug therapy. *Clin Chim Acta*. 2001;308:33–41.
- Arranz MJ, Munro J, Birkett J, et al. Pharmacogenetic prediction of clozapine response. *Lancet*. 2000;355:1615–1616.
- Smeraldi E, Zanardi R, Benedetti F, et al. Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Mol Psychiatry*. 1998;3:508–511.
- Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, et al. Efficacy of paroxetine in depression is influenced by a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene. *J Clin Psychopharmacol*. 2000;20:105–107.
- Zanardi R, Serretti A, Rossini D, et al. Factors affecting fluvoxamine antidepressant activity: influence of pindolol and 5-HTTLPR in delusional and nondelusional depression. *Biol Psychiatry*. 2001;50:323–330.
- Pollock BG, Ferrell RE, Mulsant BH, et al. Allelic variation in the serotonin transporter promoter affects onset of paroxetine treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology*. 2000;23:587–590.
- Serretti A, Zanardi R, Rossini D, et al. Influence of tryptophan hydroxylase and serotonin transporter genes on fluvoxamine antidepressant activity. *Mol Psychiatry*. 2001;6:586–592.
- Rausch JL, Johnson ME, Fei YJ, et al. Initial conditions of serotonin transporter kinetics and genotype: influence on SSRI treatment trial outcome. *Biol Psychiatry*. 2002;51:723–732.
- Kim DK, Lim SW, Lee S, et al. Serotonin transporter gene polymorphism and antidepressant response. *Neuroreport*. 2000;11:215–219.
- Serretti A, Lilli R, Smeraldi E. Pharmacogenetics in affective disorders. *Eur J Pharmacol*. 2002;438:117–128.
- Mancama D, Kerwin RW. Role of pharmacogenetics in individualising treatment with SSRIs. *CNS Drugs*. 2003;17:1–10.
- Allison DB. Transmission-disequilibrium tests for quantitative traits. *Am J Hum Genet* 1997;60:676–690.

21. Lesch KP, Bengel D, Heils A, et al. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*. 1996;274:1527-1531.
22. Spitzer RL, Gibbon M, First MEB. *Structured clinical interview for DSM-III-R*. Washington DC: American Psychiatric Press, 1990.
23. Olesen OV, Linnert K. Simplified high-performance liquid chromatographic method for the determination of citalopram and desmethylcitalopram in serum without interference from commonly used psychotropic drugs and their metabolites. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 1996;675:83-88.
24. Hamilton M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1970;23:51-56.
25. Baumann P, Nil R, Souche A, et al. A double-blind, placebo-controlled study of citalopram with and without lithium in the treatment of therapy-resistant depressive patients: a clinical, pharmacokinetic, and pharmacogenetic investigation. *J Clin Psychopharmacol*. 1996;16:307-314.
26. Frank E, Prien RF, Jarrett RB, et al. Conceptualization and rationale for consensus definitions of terms in major depressive disorder. Remission, recovery, relapse, and recurrence. *Arch Gen Psychiatry*. 1991;48:851-855.
27. Sanchez C, Hyttel J. Comparison of the effects of antidepressant and their metabolites on re-uptake of biogenic amines and on receptor binding. *Cell Mol Neurobiol*. 1999;19:467-489.
28. Enserink M. Can placebo be the cure. *Science*. 1999;184:196-204.
29. Weiss M, Gaston I, Propst A, et al. The role of alliance in the pharmacological treatment of depression. *Journal of Clinical Psychiatry*. 1997;58:196-204.

Capítulo 6

Evidences for a combined genetic effect of the Serotonin Transporter and 5-HT_{1A} receptor genes in the clinical outcome of major depressive patients treated with citalopram

B. Arias, R. Catalán, C. Gastó, B. Gutiérrez, L. Fañanás

Journal of Psychopharmacology

En consideración editorial

RESUMEN:

En el contexto de un estudio longitudinal a doce semanas, hemos analizado la posible implicación del polimorfismo -1018C/G del gen del receptor 5-HT_{1A} (HTR1A) en la evolución clínica de un episodio depresivo mayor tratado con citalopram. Previamente, habíamos descrito la existencia de una asociación entre el polimorfismo 5-HTTLPR del gen del transportador de serotonina y la remisión clínica después a 12 semanas. En el presente estudio, hemos evaluado el posible efecto combinado de los genes HTR1A y SERT sobre la evolución clínica y la remisión del episodio depresivo para el mismo periodo. La muestra estuvo formada por 130 pacientes con un episodio depresivo mayor en fase activa, todos ellos de origen español, y diagnosticados según criterios DSM-IV. Se utilizó la escala de Hamilton para Depresión de 21 ítems (HDRS: *Hamilton Depression Rating Scale*) para evaluar, al inicio del tratamiento y, posteriormente, cada cuatro semanas, la severidad de los síntomas a lo largo del seguimiento y para determinar el estado de remisión a la duodécima semana. Los pacientes fueron genotipados para el gen HTR1A, así como para dos polimorfismos del gen CYP2C19, responsables del 87% de metabolizadores pobres en población caucasoide. Los resultados fueron analizados y corregidos por el efecto que pudieran tener los metabolizadores pobres en la respuesta clínica. No se encontró un efecto independiente, en relación con la evolución clínica o la remisión, para el gen del receptor 5-HT_{1A}. Sin embargo, se encontró un claro efecto genético combinado de los genes HTR1A y SLC6A4 que parecía influir en el tipo de evolución clínica de los pacientes bajo tratamiento ($F=2.89$, $P=0.02$). De hecho, los pacientes portadores de la combinación genotípica S/S (SLC6A4)-GG (HTR1A) mostraron la peor evolución clínica a lo largo del seguimiento ($F=7.64$, $P=0.007$). Cuando consideramos el estado de remisión, se observó un incremento de pacientes portadores del genotipo de riesgo entre aquellos sujetos que no habían alcanzado la remisión (Fisher's exact test= 0.009). Nuestros resultados sugieren que la evolución clínica de los pacientes con depresión mayor tratados con citalopram está mediada por un efecto genético combinado de los receptores 5-HT_{1A} y transportador de serotonina.

Title page:

Evidences for a combined genetic effect of the 5-HT_{1A} Receptor and Serotonin Transporter genes in the clinical outcome of major depressive patients treated with citalopram

Bárbara Arias¹, Rosa Catalán^{2,3}, Cristóbal Gastó^{2,3}, Blanca Gutiérrez¹, Lourdes Fañanas¹

¹Unitat d'Antropologia, Departament de Biologia Animal, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain; ³Centre de Salut Mental Esquerre de l'Eixample, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona, Spain; ⁴Institut d'Investigació Biomèdica Agustí Pi i Sunyer (IDIBAPS).

Running title: **Combined effect of HTR1A and SLC6A4 on citalopram response.**

Correspondence author: Lourdes Fañanas, Unitat d'Antropologia, Departament de Biologia Animal, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain.

Tif. 00 34 93 402 14 61.

E-mail: lfananas@ub.edu

Abstract

Objectives: In the context of a long term follow-up study, we analysed the possible implication of the -1018C/G polymorphism of the 5-HT_{1A} receptor gene (HTR1A) on clinical outcome of major depressive patients treated with citalopram. Previously, we have reported an association between variation of SERT gene (SLC6A4) and clinical remission after citalopram treatment. In the present 12-week follow-up study, the combined effect of HTR1A, and SLC6A4 genes in clinical outcome and response to citalopram was also evaluated. **Material and Methods:** The sample consisted of 130 patients, all of Spanish origin, diagnosed as having a current major depressive episode according to DSM-IV criteria. A 21-item Hamilton Depression Rating Scale (HDRS) was used to evaluate severity of the symptoms at the beginning and during the follow-up in order to determine the outcome and remission status at 12th week. Patients were genotyped for HTR1A gene and, also, for two polymorphisms at the CYP2C19 gene, which account for the 87% of Caucasian poor metaboliser phenotype. Data were analysed correcting for the effect of poor metabolisers in clinical response. **Results:** No independent effect was found for the 5-HT_{1A} receptor gene in relation to clinical outcome or remission after citalopram treatment. However, a clear combined genetic effect of HTR1A and SLC6A4 genes was found to influence the clinical outcome of patients ($F=2.89$, $P=0.02$). In fact, patients carrying both the S/S genotype (5-HTTLPR) and the G/G genotype (-1018G/C) showed the worst clinical outcome after 12 weeks of treatment ($F=7.64$, $P=0.007$). When considering the remission status, an increase of patients carrying the risk genotype combination (S/S-G/G) was found among those subjects who do not reach remission (Fisher's exact test= 0.009). **Conclusion:** Our results suggest that clinical outcome of depressive patients treated with citalopram is mediated by the genetic combined effect of the serotonin transporter and the 5-HT_{1A} receptor.

Introduction

Clinical response is considered a complex trait in which interactions between different genes might influence efficacy of pharmacological treatment and, consequently, the individual clinical response (Stoltenberg and Burmeister, 2000). One of the most important advances in the pharmacological treatment of depression was the development of the selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs), designed as drugs with high selectiveness for their molecule target (Martin et al., 1997). SSRIs exert their antidepressive effect by blocking the neuronal serotonin transporter and increasing the availability of extracellular serotonin (5-HT). However, several weeks of treatment with antidepressants are necessary before their full therapeutic effect becomes clinically apparent (Asberg et al., 1986). This initial delay in clinical response to antidepressant treatment could result from secondary neurobiological adaptive mechanisms enhanced by the blockade of the serotonin transporter. The somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors are believed to be intimately related to this antidepressant delay effect. SSRIs markedly increase the 5-HT concentration near 5-HT containing cells in the midbrain raphe nuclei, which leads to an activation of the 5-HT_{1A} autoreceptors that inhibits the firing and reduces the 5-HT release in the forebrain (Artigas et al., 1996). This sequence of events is thought to be responsible for the slow onset of action of SSRIs, which often requires 3-4 weeks before clinical effects become evident (Blier et al., 1987). The effect of long-term administration of SSRIs may be expected to induce desensitisation of 5-HT_{1A} autoreceptors, which gradually reinforces serotonergic neurotransmission leading to the pharmacological response in patients (Blier and de Montigny, 1998). In this sense, it has been proposed that 5-HT_{1A} receptor antagonists could accelerate the

clinical effects of antidepressant by preventing this negative feedback (Artigas et al., 2001).

The gene encoding for the serotonin transporter (chromosome 17q11-12) presents a functional polymorphism in the promoter region (5-HTTLPR). The short variant (S) of this polymorphism has been related to low transcriptional efficiency resulting in a decreased serotonin transporter expression in the neuron (Lesch et al., 1996; Heils et al., 1997). This reduced efficiency of SLC6A4 gene has been considered as a hypothetical risk factor for modifying clinical response to drugs that have this receptor as a main target protein. Recent studies have shown an association between this short allele of the 5-HTTLPR polymorphism and worse antidepressant response to different SSRIs, such as fluvoxamine, fluoxetine, paroxetine or citalopram (Smeraldi et al., 1998; Pollock et al., 2000; Zanardi et al., 2000; Rausch et al., 2002; Arias et al., (in press)).

Apart from the implication of the serotonin transporter gene in SSRIs response, which seems to be widely accepted, other different genes may be implicated in clinical response due to the complex interactions between molecules that probably occur in the neuron when the antidepressant action modifies internal neuronal homeostasis.

Recent studies have reported the involvement of tryptophan hydroxylase gene (TPH) and the G-protein $\beta 3$ -variant in clinical response to different antidepressant treatments (Zill et al., 2000; Serretti et al., 2001a; Serretti et al., 2001b). Different approaches considering a possible combined effect of the TPH gene and SLC6A4 gene on clinical response to fluvoxamine in a major depressive sample were also considered, although no effect could be found (Serretti et al., 2001). Likewise, other genes, such as DRD2, DRD4, HTR2A or MAOA gene, have been studied in relation

to clinical response to SSRIs without finding any positive association between the antidepressant action and clinical outcome (Serretti et al., 2001b; Cusin et al., 2002) (Serretti y cols, 2001b; Cusin y cols, 2002) (see also for review Serretti et al., 2002 and Mancama and Kerwin, 2003).

As commented above, 5-HT_{1A} receptor is thought to be related to the origin of depression and to clinical response to antidepressants, which makes this gene candidate for association studies. To date, those studies have failed to demonstrate any relation between polymorphisms on this gene and mental disorders such as schizophrenia, anxiety or major depression (Kobilka et al., 1987; Erdmann et al., 1995; Kawanishi et al., 1998; Serretti et al., 2000).

A novel and relatively common non functional polymorphism (C-1018G) has been described on promoter region of this gene (Wu and Comings, 1999). No association between this new variant and vulnerability to major depression has been found in two independent studies (Wu and Comings, 1999; Arias et al., 2002). As far as we know, there are no studies relating clinical outcome after antidepressant treatment and genetic variability on 5-HT_{1A} receptor.

The aim of the present study was to analyze the role 5-HT_{1A} receptor gene and the possible combined effect with the serotonin transporter gene (5-HTTLPR polymorphism) on clinical outcome and remission status in major depressive patients treated with citalopram in a twelve weeks follow up study.

Materials and Methods

Subjects

Our sample consisted of 130 depressive outpatients (31 males and 99 females) from the Centre de Salut Mental Esquerre de l'Eixample (Hospital Clínic i Provincia de

Barcelona, Spain). Patients were recruited between 1999 and 2002 and followed during, at least, twelve weeks by experienced psychiatrists. They all suffered a DSM-IV (APA, 1994) active episode of major depression at the time of their inclusion in the study. All cases were diagnosed using the Spanish version of the Structural Clinical Interview according to DSM-IV criteria (SCID) (Spitzer RL, 1990). On average, patients were 39.96 years old (SD=12.27) and presented a mean age of onset for the first depressive episode of 31.34 (SD=10.94).

The 21-item Hamilton Depression Rating Scale (HDRS) (Hamilton, 1970) was used to evaluate clinical severity of the index major depressive episode. The mean value for the HDRS index in the total sample was 24.87 ± 4.76 . A new HDRS was assessed to all patients every 4 weeks until completion of the follow-up at week 12. Remission for the index episode was considered when HDRS scores were equal or under 7 by the end of week 12 (as established by Frank et al. 1991).

All patients were treated with citalopram –CIT- (mean initial dose: 26.77; range:20-40mg/day). Prior to their inclusion in the study, a 2-weeks-wash-out was performed on those patients who were being treated with different drugs. Plasma levels of CIT were measured at 6th week by high performance liquid chromatography in order to assess treatment compliance (Olesen and Linet, 1996). On average, patients showed mean 6-weeks plasma levels of CIT of 58.31 ng/ml (SD=33.24).

Ethical approval was obtained from local research ethic committees. Patients provided written informed consent before inclusion in the study.

Molecular analysis

Genomic ADN was extracted from blood samples using a standard phenol-chloroform method. The –1018C/G polymorphism of the 5-HT_{1A} receptor gene were analysed in our sample of patients using the protocols previously described by Arias

and colleagues (Arias et al., 2002). The C-1018G polymorphism had been previously analysed in a Spanish control sample with the same ethnic origin than our cases. Frequencies reported in that Spanish control population for the HTR1A gene (-1018C/G) were: C/C=44 (25.9%), C/G= 94 (55.3%), G/G=32 (18.8%) (Arias et al, 2002).

Two polymorphisms of the CYP2C19 gene (681-G/A and 636-G/A), the main metabolism enzyme of the citalopram molecule, were also genotyped in order to detect real poor metabolisers in the patient sample. The mutant variant of those polymorphisms code for a non functional enzyme and they were revealed to be the cause of 87 per cent of Caucasian poor metabolisers and 99 per cent of Oriental ones (de Morais et al., 1994; Ferguson et al., 1998). PCR amplifications and digestions were done following protocols previously established by De Morais et al (1994) and Ferguson et al (1994). These polymorphisms were also analysed in a control sample of 177 individuals with the same ethnic origin than patients (see Arias et al., 2002 for control sample details). No genetic variability was found for the 636-G/A polymorphism in our Spanish samples, and then only polymorphism 681-G/A was considered in order to detect poor metabolisers (those who were homozygous for the A681 allele). When 681-G/A polymorphism of the CYP2C19 was analysed in the patients sample, genotype distributions were shown to be independently distributed according to clinical outcome measured by HDRS scores ($F=0.126$, $P=0.881$; considering carriers of mutant allele: $F=0.225$, $P=0.636$) and remission condition at 12th week ($\chi^2=3.62$, $P=0.16$; considering carriers of mutant allele: $\chi^2=8.23$, $P=0.248$).

Genotype determinations for all the genes that have been analysed were performed blind to clinical condition. Randomized individuals were re-tested for their genotypes confirming the pattern reproducibility

Statistical analysis

Simple chi-squared tests of independence were also performed to confirm the presence or absence of allele or genotype associations. Odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CI) were estimated for the effects of high-risk genotypes and alleles.

In order to test effects of genotype groups, time and interaction between genotype group and time, a two-way repeated-measures ANOVA of HDRS scores was used. All HDRS observations took along the follow up were used to calculate the ANOVA test. All these statistical analyses were corrected for citalopram levels (data not shown but available on demand).

Results

Concerning the observed genotype frequencies in the group of patients (%) for the 1018C/G polymorphism of the HTR1A gene, we found that 32 (24.6%) individuals were C/C, 68 (52.3%) were C/G and 30 (23.1%) were G/G. On the other hand, the observed genotype frequencies for the 681-G/A polymorphism were: G/G=97 (74.6%), G/A=30 (23.1%), A/A=3 (2.3%). For both polymorphisms, genotype frequencies were found to be in Hardy-Weinberg equilibrium (-1018-C/G polymorphism: $\chi^2=0.15$, $P=0.92$; 681-G/A polymorphism: $\chi^2=0.22$, $P=0.89$)

The comparison of C-1018G and 681G/A distribution between our group of patients with major depression and the Spanish control sample mentioned above showed

similar pattern of frequencies (data not shown) (see Material and Methods for genotype distributions in controls).

A two way repeated measures ANOVA on HDRS scores was used to evaluate the possible effect of 5-HT_{1A} receptor on 12-weeks clinical outcome of patients treated with citalopram. We could not either find any significant difference when we analysed the possible correspondence between genotype distributions of the -1018C/G polymorphism and the decrease of HDRS scores along the follow up, using the citalopram levels as covariate ($F=0.79$, $P=0.45$).

Taking into account previous results reported by our group in which we detected an association between clinical response and genetic variability in serotonin transporter gene (5-HTTLR polymorphism), we tested if it exists a combined influence of HTR1A gene and SLC6A4 gene in clinical outcome of a depressive episode treated with citalopram.

When we considered the possible interaction between the 5-HT_{1A} receptor gene (C-1018G) and the serotonin transporter gene (5-HTTLPR) we found a significant additive effect on the decrease of HDRS scores along the twelve weeks of follow-up ($F=2.89$, $P=0.02$). In Figure 1, all possible genotype combinations and the frequencies of the two polymorphisms have been represented; patients with the genotype combination S/S (5-HTTLPR polymorphism of SLC6A4 gene) and G/G (C-1018G polymorphism of the 5-HT_{1A} receptor gene) presented the worst outcome compared with those patients carrying any other combination. Frequency distribution for this nine genotype combinations were also calculated in the sample of healthy individuals of Spanish origin, showing no statistical differences when compared with those found in the group of patients ($\chi^2=6.69$, $P=0.57$).

In Figure 2, it has been specifically represented the outcome of homozygous individuals for the S/S-G/G combination versus the rest of genotype combinations. Homozygous carrying the risk genotype present a more severe index episode and score higher for all the HDRS along the follow up and until the end of the third month ($F= 7.64$, $P=0.007$). HDRS punctuations showed statistical differences between both subgroups at week 0 ($F= 7.69$, $P=0.006$), week 8 ($F= 4.41$, $P=0.038$) and week 12 ($F= 4.68$, $P=0.032$).

Concerning the status of remission after citalopram treatment, we analysed distribution of C-1018G genotypes (independently and combined with 5-HTTLPR genotype) in remission (70% of the patients) and in non remission groups (30%). Genotype distributions of C-1018G polymorphism showed no association with remission status ($\chi^2=1.73$, $P=0.41$). However, the combined analysis showed that five out of six individuals presenting the genotype combination S/S-G/G were in the non remission group of patients (12.8% vs 1.1%). Although the sample size of S/S-G/G carriers group, these differences were statistically significant (Fisher's exact test= 0.009).

No differences in plasma levels of citalopram were found between the remission and the non-remission groups ($F=0.28$, $P=0.59$). Indeed, the remission status was independent of CYP2C19 genotypes (chi-squared = 3.58, $P=0.163$).

The combination of 5-HTTLPR and -1018C/G polymorphisms gave a level of remission prediction after a citalopram treatment of 73.1% ($P=0.02$). The positive predictive value for these results was 0.72 (SD 0.12), and the negative predictive value was 0.83 (SD 0.15). This genetic combination had a sensitivity of 98% (SD 1.4%) for the identification of patients who reach remission, and a specificity of 87 %

(SD 5%) for the detection of individuals who did not reach remission after twelve weeks of treatment with citalopram.

Discussion

All previous studies on major depression pharmacogenetics have reported the genetic influence of serotonin transporter on clinical response to different SSRIs such as fluoxetine, fluvoxamine, paroxetine or citalopram (Smeraldi et al., 1998; Pollock et al., 2000; Zanardi et al., 2000; Rausch et al., 2002; Arias et al., (in press)). These results seem to be congruent to the fact that serotonin transporter molecule is the main target of these selective antidepressants. However, reports on other different genes and their influence on antidepressant response have shown controversial results. Serretti and colleagues have studied the possible effect of TPH and SLC6A4 gene on clinical outcome, although an effect was found with TPH gene and clinical response to fluvoxamine, no combined effect between both genes was detected in their Italian sample (Serretti et al., 2001).

Referring to results involving genetic variability on 5-HT_{1A} receptor, our study represents the first genetic evidence of the possible implication of the 5-HT_{1A} receptor in modulation of clinical response to SSRIs. However, since C-1018G polymorphism is a silent mutation on the promoter region of the 5-HT_{1A} receptor, these results may reflect the possible effect of a functional polymorphism elsewhere in the gene, which would be in linkage disequilibrium with the above mentioned mutation. This hypothetical polymorphism may explain some aspects, maybe related to the desensitisation effect of the 5-HT_{1A} receptor, which could help us to understand the role that plays this protein in the response to clinical antidepressant treatment. Unfortunately, and as far as we know, no studies analyzing a possible differential expression of the 5-HT_{1A} receptor in relation to the -1018G/C have been reported.

Summarizing, we have found an effect of a genotype combination S/S (5-HTTLPR polymorphism) and G/G (C-1018G polymorphism) in clinical outcome of depressive episode and in non remission after 12 weeks of treatment with citalopram. Results have shown that patients carrying this genotype combination presented a more severe initial depressive episode than those carrying another one (Figure 2). One of the main problems with pharmacogenetic studies is that we are investigating genes that are not only involved in clinical response to psycho-drug treatments but also maybe involved in the vulnerability for the disease itself. Concerning this fact and as it was referred in the Results Section, we analysed the distribution of 5-HTTLPR and C-1018G genotype in a control sample with the same ethnic origin than patients. The proportion of individuals carrying the combination S/S-G/G was 4.6% in both, patients and controls, indicating that this genotype combination may be not primarily involved in the origin of major depression but it is influencing clinical response to SSRIs. Although no association with the disease was detected, we should not forget that major depression is a very heterogeneous and genetic complex disorder in which genes and environmental risk factors are involved, as it was recently shown by Caspi et al (2003).

In conclusion, our results suggest that combined genetic variation at serotonin transporter and 5-HT_{1A} receptor could be related to clinical response to SSRIs in major depression. Subsequently, this fact point out the possibility of creating a genetic profile that could help in general practice setting in order to individualize the pharmacological treatment of depression

Acknowledgements

This study was supported by a grant from the *Fondo de Investigaciones Sanitarias*, FIS 00-0613, Spain. Barbara Arias was awarded by a grant from the *Universitat de Barcelona*. Dr. Blanca Gutiérrez had a RED fellowship from *Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació, Generalitat de Catalunya*.

Authors want to thank Dr. Luis Pintor and Dr. Maria Luisa Imaz for their collaboration in clinical data collection.

Our special gratitude to patients and their families for their generosity.

References

- Arias B, Arranz MJ, Gasto C, Catalan R, Pintor L, Gutierrez B, Kerwin RW, Fananas L (2002) Analysis of structural polymorphisms and C-1018G promoter variant of the 5-HT(1A) receptor gene as putative risk factors in major depression. *Mol Psychiatry* 7:930-932.
- Arias B, Catalán R, Gastó C, Gutiérrez B, Fañanás L (in press) 5-HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene predicts non-remission in mayor depression patients treated with citalopram in twelve weeks follow up study. *Journal of Clinical Psychopharmacology*.
- Artigas F, Celada P, Laruelle M, Adell A (2001) How does pindolol improve antidepressant action? *Trends Pharmacol Sci* 22:224-228.
- Artigas F, Romero L, de Montigny C, Blier P (1996) Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT1A antagonists. *Trends Neurosci* 19:378-383.
- Asberg M, Eriksson B, Martensson B, Traskman-Bendz L, Wagner A (1986) Therapeutic effects of serotonin uptake inhibitors in depression. *J Clin Psychiatry* 47 *Suppl*:23-35.
- Blier P, de Montigny C (1998) Possible serotonergic mechanisms underlying the antidepressant and anti- obsessive-compulsive disorder responses. *Biol Psychiatry* 44:313-323.
- Blier P, de Montigny C, Chaput Y (1987) Modifications of the serotonin system by antidepressant treatments: implications for the therapeutic response in major depression. *J Clin Psychopharmacol* 7:24S-35S.
- Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, McClay J, Mill J, Martin J, Braithwaite A, Poulton R (2003) Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 301:386-389.
- Cusin C, Serretti A, Zanardi R, Lattuada E, Rossini D, Lilli R, Lorenzi C, Smeraldi E (2002) Influence of monoamine oxidase A and serotonin receptor 2A polymorphisms in SSRI antidepressant activity. *Int J Neuropsychopharmacol* 5:27-35.
- De Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA (1994) The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem* 269:15419-15422.
- Erdmann J, Shimron-Abarbanell D, Cichon S, Albus M, Maier W, Lichtermann D, Minges J, Reuner U, Franzek E, Ertl MA, et al. (1995) Systematic screening for mutations in the promoter and the coding region of the 5-HT1A gene. *Am J Med Genet* 60:393-399.
- Ferguson RJ, De Morais SM, Benhamou S, Bouchardy C, Blaisdell J, Ibeanu G, Wilkinson GR, Sarich TC, Wright JM, Dayer P, Goldstein JA (1998) A new genetic

defect in human CYP2C19: mutation of the initiation codon is responsible for poor metabolism of S-mephenytoin. *J Pharmacol Exp Ther* 284:356-361.

Frank E, Prien RF, Jarrett RB, Keller MB, Kupfer DJ, Lavori PW, Rush AJ, Weissman MM (1991) Conceptualization and rationale for consensus definitions of terms in major depressive disorder. Remission, recovery, relapse, and recurrence. *Arch Gen Psychiatry* 48:851-855.

Hamilton M (1970) A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 23:51-56.

Heils A, Mossner R, Lesch KP (1997) The human serotonin transporter gene polymorphism--basic research and clinical implications. *J Neural Transm* 104:1005-1014.

Kawanishi Y, Harada S, Tachikawa H, Okubo T, Shiraishi H (1998) Novel mutations in the promoter and coding region of the human 5-HT_{1A} receptor gene and association analysis in schizophrenia. *Am J Med Genet* 81:434-439.

Kobilka BK, Frielle T, Collins S, Yang-Feng T, Kobilka TS, Francke U, Lefkowitz RJ, Caron MG (1987) An intronless gene encoding a potential member of the family of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *Nature* 329:75-79.

Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Muller CR, Hamer DH, Murphy DL (1996) Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 274:1527-1531.

Mancama D, Kerwin RW (2003) Role of pharmacogenetics in individualising treatment with SSRIs. *CNS Drugs* 17:1-10.

Martin RM, Hilton SR, Kerry SM, Richards NM (1997) General practitioners' perceptions of the tolerability of antidepressant drugs: a comparison of selective serotonin reuptake inhibitors and tricyclic antidepressants. *Bmj* 314:646-651.

Olesen OV, Linnet K (1996) Simplified high-performance liquid chromatographic method for the determination of citalopram and desmethylcitalopram in serum without interference from commonly used psychotropic drugs and their metabolites. *J Chromatogr B Biomed Appl* 675:83-88.

Pollock BG, Ferrell RE, Mulsant BH, Mazumdar S, Miller M, Sweet RA, Davis S, Kirshner MA, Houck PR, Stack JA, Reynolds CF, Kupfer DJ (2000) Allelic variation in the serotonin transporter promoter affects onset of paroxetine treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* 23:587-590.

Rausch JL, Johnson ME, Fei YJ, Li JQ, Shendarkar N, Hobby HM, Ganapathy V, Leibach FH (2002) Initial conditions of serotonin transporter kinetics and genotype: influence on SSRI treatment trial outcome. *Biol Psychiatry* 51:723-732.

Serretti A, Lilli R, Lorenzi C, Lattuada E, Smeraldi E (2000) Serotonin-2C and serotonin-1A receptor genes are not associated with psychotic symptomatology of mood disorders. *Am J Med Genet* 96:161-166.

Serretti A, Lilli R, Smeraldi E (2002) Pharmacogenetics in affective disorders. *Eur J Pharmacol* 438:117-128.

Serretti A, Zanardi R, Cusin C, Rossini D, Lorenzi C, Smeraldi E (2001a) Tryptophan hydroxylase gene associated with paroxetine antidepressant activity. *Eur Neuropsychopharmacol* 11:375-380.

Serretti A, Zanardi R, Rossini D, Cusin C, Lilli R, Smeraldi E (2001b) Influence of tryptophan hydroxylase and serotonin transporter genes on fluvoxamine antidepressant activity. *Mol Psychiatry* 6:586-592.

Smeraldi E, Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Perez J, Catalano M (1998) Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Mol Psychiatry* 3:508-511.

Spitzer RL WJ, Gibbon M, First MEB.(1990) Structured clinical interview for DSM-III-R. Washington DC: American Psychiatric Press.

Stoltenberg SF, Burmeister M (2000) Recent progress in psychiatric genetics-some hope but no hype. *Hum Mol Genet* 9:927-935.

Wu S, Comings DE (1999) A common C-1018G polymorphism in the human 5-HT1A receptor gene. *Psychiatr Genet* 9:105-106.

Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Catalano M, Smeraldi E (2000) Efficacy of paroxetine in depression is influenced by a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene. *J Clin Psychopharmacol* 20:105-107.

Zill P, Baghai TC, Zwanzger P, Schule C, Minov C, Riedel M, Neumeier K, Rupprecht R, Bondy B (2000) Evidence for an association between a G-protein beta3-gene variant with depression and response to antidepressant treatment. *Neuroreport* 11:1893-1897.

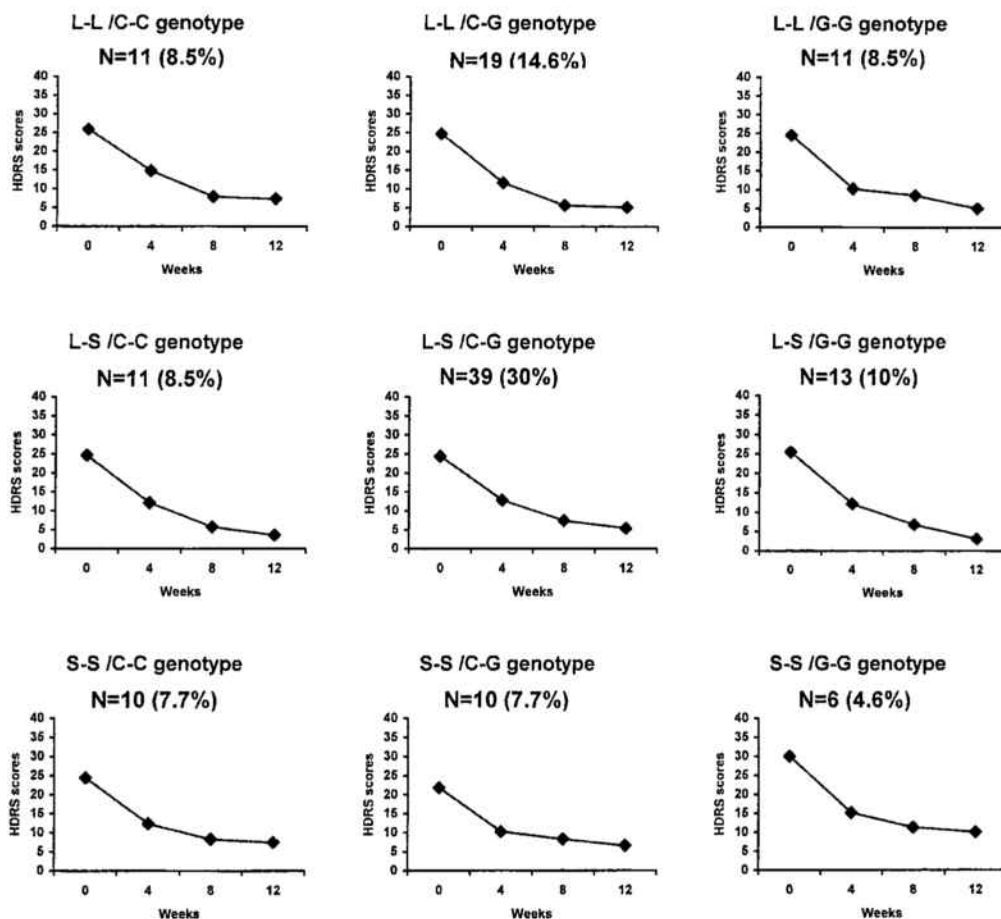


Figure 1. Clinical outcome of major depressive patients treated with citalopram during 12 weeks according to all the possible genotype combination of both 5-HTTLPR polymorphism (SLC6A4 gene) and C-1018G variants (5-HT_{1A} gene) (F=2.89, P=0.02). Individuals presenting the combination S/S-G/G showed the worst outcome compared to patients non-carrying the risk genotype.

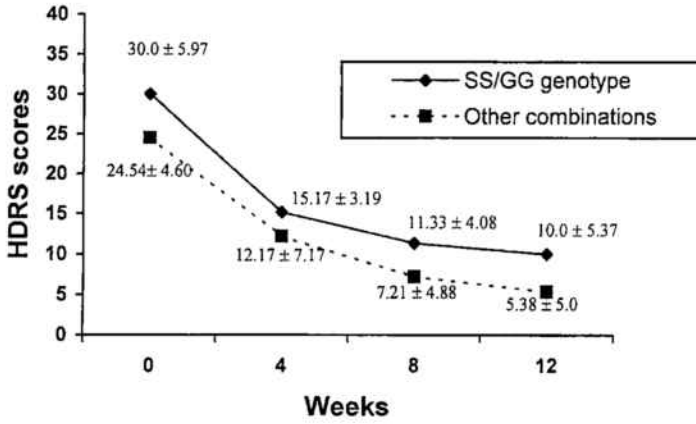


Figure 2. Homozygous individuals for the SS-GG combination present a more severe index episode and score higher for all the HDRS punctuations along the 12 week follow up. These patients present a worse clinical outcome after citalopram treatment compared to the rest of patients carrying any other genotype ($F= 7.64, P=0.007$).

VII. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Capítulos 1 y 3

Polimorfismo 102T/C del gen del receptor de serotonina 5-HT_{2A} en depresión mayor

Tal y como ha sido señalado en la Introducción, son numerosas las investigaciones centradas en el análisis de la variabilidad genética asociada a receptores y enzimas del sistema serotoninérgico en pacientes con depresión mayor. Concretamente, y haciendo referencia al gen del receptor de serotonina 5-HT_{2A}, diferentes estudios han puesto de manifiesto el posible rol que este gen podría jugar en la etiología de los trastornos psiquiátricos (Erdmann y cols, 1996; Collier y cols, 1997; Enoch y cols, 1999; Du y cols, 2000).

El alelo C102 del polimorfismo 102T/C situado en el exón 1 del gen HTR2A ha sido descrito como factor de riesgo en esquizofrenia (Erdmann y cols, 1996) y en el comportamiento suicida asociado a episodios depresivos (Du y cols, 2000). Igualmente, el polimorfismo -1438G/A (en completo desequilibrio de ligamiento con el polimorfismo 102T/C), ha sido relacionado con el trastorno afectivo estacional (Enoch y cols, 1999) y con trastornos de la conducta alimentaria como la anorexia nerviosa (Collier y cols, 1997).

Sin embargo, los resultados encontrados para este mismo polimorfismo del gen del receptor de serotonina 5-HT_{2A} en nuestro estudio no parecen detectar un efecto importante de esta variación sobre el riesgo para la depresión. Resultados semejantes han sido obtenidos en otros estudios de asociación genética tipo caso-control en poblaciones de origen italiano y en población caucasoide americana (Ohara y cols, 1998; Frisch y cols, 1999; Serretti y cols, 1999). Por tanto, estos resultados sugieren la implicación de este gen en la modulación del curso del episodio depresivo y en otros aspectos de su compleja expresión clínica, pero no

propriadamente en el riesgo para la enfermedad (Ohara y cols, 1998; Enoch y cols, 1999).

Pasamos a discutir este punto a continuación en referencia a los hallazgos encontrados en la presente Tesis.

- *Gen HTR2A (polimorfismo 102T/C) y estacionalidad de los síntomas depresivos*

Los cambios estacionales que se producen en el humor y en el comportamiento de las personas han sido ampliamente descritos en población general y también valorados desde una perspectiva de severidad del síntoma depresivo (Terman, 1988; Kasper y cols, 1989). Algunos estudios sugieren que el extremo más grave de este espectro poblacional lo constituiría el llamado trastorno afectivo estacional (TAE), un síndrome que clínicamente es posible diagnosticar y que tiende a presentarse en familias y en individuos biológicamente predispuestos (Madden y cols, 1996).

Sin embargo, los patrones estacionales en la manifestación de los síntomas depresivos también pueden ser detectados en el curso y evolución de una depresión mayor. Partonen y cols (Partonen and Lonqvist, 1998) calculan que alrededor de un 15% de los pacientes que sufren trastornos afectivos recurrentes presentan un patrón estacional en sus episodios según criterios estrictos DSM-IV.

Dada la importancia que parece tener el sistema serotoninérgico en el control de funciones biológicas que varían de manera estacional (el apetito, el sueño, el peso o el humor), algunos autores han explorado el posible rol de los genes del sistema serotoninérgico en todo el espectro de trastornos del ánimo de curso estacional. En este sentido, un polimorfismo funcional (5-HTTLPR) localizado en la zona promotora del gen del transportador de serotonina se ha visto asociado con el

TAE (Rosenthal y cols, 1998) y más recientemente, Enoch y cols. (1999), encontraron un aumento significativo de la variante -1438G del gen HTR2A en pacientes afectados con dicho trastorno.

Tal y como ha sido presentado en el apartados de Resultados, el polimorfismo 102T/C del gen del receptor de serotonina 5-HT_{2A} se encontró asociado al trastorno depresivo mayor con patrón estacional. Los pacientes depresivos con patrón estacional estudiados en nuestra muestra, presentaban unas frecuencias aumentadas del alelo 102C respecto a los pacientes sin patrón estacional y respecto a controles. El polimorfismo 102T/C no provoca cambios en la secuencia aminoacídica de la proteína, y el hecho de que para el polimorfismo -1438G/A de la zona promotora del mismo gen no se hayan detectado diferencias funcionales, podría indicar la existencia de otro polimorfismo funcional no descrito que estaría en desequilibrio de ligamiento con los dos anteriores y que, posiblemente, sí presentaría algún cambio funcional dependiente de la variante genética expresada (Spurlock y cols, 1998).

El hecho de que, además, el subgrupo de pacientes con patrón estacional esté caracterizado por una edad de inicio más temprana, con puntuaciones más elevadas la escala de Hamilton, más intentos de suicidio, así como por una proporción mayor de síntomas melancólicos, nos hizo pensar que ese posible factor genético de vulnerabilidad involucrado en el patrón estacional de la enfermedad podría tener otras implicaciones en la definición fenotípica de la depresión, participando como un elemento genético de severidad clínica. La exploración de esta zona genómica a la búsqueda de dicha variación podrá, en el futuro, permitir una completa discusión de estos resultados.

-Gen HTR2A (polimorfismo 102T/C) y comportamiento suicida en la depresión mayor.

Diferentes líneas de investigación han sugerido que los factores genéticos podrían jugar un papel determinante en la modulación del comportamiento suicida (Statham y cols, 1998). De hecho, los estudios familiares han puesto de manifiesto que este tipo de comportamiento es más frecuente en aquellos individuos que presentan antecedentes de suicidio entre sus familiares (Murphy and Wetzel, 1982; Roy y cols, 1999). En este sentido, estudios recientes de asociación genética han descrito una relación entre ciertas variantes alélicas de genes candidatos del sistema serotoninérgico como la triptófano hidroxilasa, el transportador de serotonina o el receptor 5-HT_{2A} y el comportamiento suicida en individuos con depresión mayor (Mann y cols, 1997; Du y cols, 1999; Bellivier y cols, 2000; Du y cols, 2000). Estas evidencias apoyarían la hipótesis que defiende la implicación de factores genéticos relacionados con la actividad serotoninérgica en la modulación del comportamiento suicida.

Entre estos factores, el gen del receptor de serotonina 5-HT_{2A} ha sido considerado como un gen candidato particularmente interesante debido a que se han encontrado densidades alteradas de este receptor en plaquetas y en determinadas zonas cerebrales de individuos que habían cometido suicidio (Arango y cols, 1990; Hrdina y cols, 1993; Hrdina y cols, 1995). En este sentido, y como hemos visto, algunos autores han explorado la posible implicación de este gen tanto en el origen de la depresión mayor como en el riesgo para suicidio. Mientras que los resultados obtenidos en los estudios de asociación con depresión mayor parecen descartar un efecto importante de este gen en el riesgo para el trastorno depresivo (Mahieu y cols, 1997; Ohara y cols, 1998), resultados recientes han encontrado, sin

embargo, una asociación significativa entre el alelo C102 del polimorfismo 102T/C y el comportamiento suicida (Du y cols, 2000).

Nuestros resultados replican los hallazgos de Du y cols (2000) en una muestra más numerosa e independiente de pacientes, identificándose una asociación entre el alelo C102 y el comportamiento suicida en depresión. Así, los pacientes que presentaban alta ideación suicida durante el curso del episodio depresivo mostraron una frecuencia aumentada del alelo 102C del polimorfismo 102T/C respecto a los pacientes que no presentaban dicho síntoma. Cuando el fenotipo suicida se restringió únicamente a aquellos pacientes que habían presentado alguna tentativa de suicidio, el alelo C102 también se encontró significativamente en exceso en este grupo de pacientes en comparación con el grupo de pacientes que no presentaban tentativas de suicidio en su historia clínica. Tal y como hemos explicado anteriormente, el hecho de que el polimorfismo 102T/C no provoque cambios en la secuencia aminoacídica de la proteína, podría estar indicando la existencia de otro polimorfismo funcional que se encontraría en desequilibrio de ligamiento con el anterior y que probablemente, sí presentaría algún cambio funcional dependiente de la variante genética expresada.

En contraposición a los hallazgos de Du y cols (2000) y nuestro trabajo, otros autores no han podido replicar esta asociación (Bondy y cols, 2000; Crawford y cols, 2000; Preuss y cols, 2000) aunque es posible que el efecto de la heterogeneidad clínica, el tamaño muestra, la etnicidad, o simplemente la modesta contribución de este gen en el riesgo para suicidio puedan ser la causa de la no replicación de los resultados de Du y cols (2000) y de nuestros propios hallazgos.

En conclusión, los hallazgos en el gen HTR2A tanto para estacionalidad como para la conducta suicida, serían compatibles y apoyarían la existencia de subgrupos

biológicos de pacientes, así como, quizás, la existencia de una heterogeneidad etiopatogénica en el trastorno depresivo, esgrimida ya por diferentes autores (Judd, 1997; Winokur, 1997).

En estudios previos realizados por nuestro grupo, ya se habían aportado evidencias de la existencia de esta heterogeneidad en este mismo grupo de pacientes depresivos. El haplotipo 484-Stin2.10 del gen del transportador de serotonina parecía aumentar el riesgo para que el episodio depresivo cursara con síntomas melancólicos diagnosticados según criterios estrictos DSM-IV (Gutierrez y cols, 1998).

De acuerdo con lo anterior, los síntomas depresivos podrían ser considerados como una secuencia de estados en pacientes que fácilmente, y probablemente por una influencia ambiental, experimentarían una amplia variedad de subtipos depresivos caracterizados por cambios sutiles en el curso e intensidad de los episodios (Winokur, 1997). Estos cambios podrían reflejar las diferencias etiopatogénicas, o combinaciones genéticas de riesgo, existentes entre sujetos.

Capítulo 2

Polimorfismos -19G/C y 12A/T del gen del receptor de serotonina 5-HT_{5A} en depresión mayor

Los polimorfismos -19G/C y 12A/T del gen HTR5A fueron inicialmente identificados por Shimrom-Abarbanell y cols en 1997 y su variabilidad fue descrita en población general alemana por este mismo grupo. Posteriormente, un estudio realizado en población británica en el año 2000 (Birkett y cols, 2000) puso de manifiesto la posible implicación de estos polimorfismos en el origen de la patología mental. El estudio fue realizado en tres muestras independientes de pacientes

diagnosticados de esquizofrenia, trastorno bipolar y depresión mayor, así como en una muestra de población control de origen británico. Los resultados mostraron que existía asociación entre el gen del receptor de serotonina 5-HT_{5A} y los tres diagnósticos investigados.

En nuestro caso, la asociación entre este gen y el trastorno depresivo mayor no ha podido ser replicada. Es interesante señalar en esta discusión que tanto la distribución de frecuencias alélicas como genotípicas en el grupo de pacientes depresivos británicos fueron semejantes a las descritas en la muestra española de pacientes con depresión mayor. Sin embargo, las frecuencias de la población control de origen británico fueron claramente diferentes a las descritas en nuestro grupo control, e igualmente, distintas a las obtenidas por el equipo de Shimrom-Abarbanell y cols (1997) en población general alemana. Las frecuencias de la población general alemana y las de nuestra población control fueron muy similares, tal y como cabía esperar en base a los estudios previos de genética de poblaciones (Simoni y cols, 2000). Revisando la publicación de Birkett y colaboradores (2000), encontramos en la discusión de los autores una mención a la posibilidad de que la incorrecta estratificación y selección de los controles de su estudio fuera la causa de la asociación genética que describen con respecto a los tres diagnósticos considerados. La ausencia de asociación genética descrita en el estudio de Shimrom-Abarbanell y cols (1997) y nuestros propios resultados así parecen igualmente indicarlo.

El análisis haplotípico de los polimorfismos -19G/C y 12 A/T del gen del receptor de serotonina confirmó que ambos polimorfismos se encontraban en fuerte desequilibrio de ligamiento, como ya había sido descrito para población alemana (Shimron-Abarbanell y cols, 1997). Sin embargo, y como era de esperar según los

datos obtenidos en las comparaciones independientes de cada uno de los polimorfismos, la distribución de los haplotipos en el grupo de pacientes y en el grupo control fue equivalente y no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

En conclusión, los resultados obtenidos en el análisis de los dos polimorfismos localizados en el gen del receptor de serotonina 5-HT_{5A} indican que la variabilidad analizada no es un factor de riesgo para la depresión mayor, así como tampoco parecen relacionarse con ninguno de los síntomas o signos clínicos de interés analizados.

El gen del receptor de serotonina 5-HT_{5A} es, comparativamente con otros receptores de la misma familia, un gen relativamente poco conocido; futuros trabajos sobre la identificación de nuevas zonas de variabilidad podrían aportar nueva información que contribuya a valorar la importancia definitiva de este receptor y de sus variantes genéticas en el origen de los trastornos depresivos.

Capítulo 4

Polimorfismo -1018G/C del gen del receptor 5-HT_{1A} como factor de riesgo en depresión mayor.

Debido a su función en el sistema nervioso central, el receptor de serotonina 5-HT_{1A} ha sido considerado como un gen candidato de susceptibilidad para enfermedades como la ansiedad o la depresión mayor, así como para otros trastornos psiquiátricos (Hammon, 1997). La principal función de este receptor es regular la liberación de serotonina al espacio intersináptico en neuronas serotoninérgicas y regular la acción de neuronas no serotoninérgicas de regiones del sistema límbico, básicamente (Dubovsky and Thomas, 1995). Adicionalmente, y tal y

como hemos visto en la introducción de esta Tesis, el receptor 5-HT_{1A} parece jugar un papel clave modulando la respuesta clínica a fármacos antidepresivos, sobre todo de los Inhibidores Selectivos de la Recaptación de Serotonina (ISRS). Por esta razón, y debido a las funciones asociadas al receptor 5-HT_{1A}, el gen que codifica para esta proteína se perfila como un gen de alto interés.

El gen del receptor de serotonina 5-HT_{1A} está constituido por un solo exón y codifica para una proteína de 422 aminoácidos (Kobilka y cols, 1987). Hasta el momento han sido descritos diversos SNPs (single nucleotide polymorphisms) de baja frecuencia localizados en la secuencia codificante de este gen (Erdmann y cols, 1995; Kawanishi y cols, 1998). Sin embargo, los estudios de asociación llevados a cabo no parecen mostrar ninguna relación entre la variabilidad analizada y la susceptibilidad para trastornos mentales tales como la esquizofrenia o la depresión mayor (Erdmann y cols, 1995; Kawanishi y cols, 1998; Serretti y cols, 2000).

Recientemente, ha sido descrito un nuevo polimorfismo (C-1018G) relativamente frecuente (frecuencia del alelo -C1018C en población española: 53.4%) y localizado en la zona promotora de este gen, el cual podría proporcionar información interesante acerca de la implicación del receptor 5-HT_{1A} en el origen de los trastornos mentales (Wu and Comings, 1999).

Nuestro estudio analizó cuatro polimorfismos diferentes, tres de tipo estructural localizados en la región codificante del gen (Ile28Val, Asp272Gly y Pro16Leu) y el polimorfismo C-1018G, ya mencionado, localizado en la zona promotora del gen. Desafortunadamente, no se pudo realizar ninguna comparación estadística entre las distribuciones alélicas y genotípicas de los polimorfismos localizados en la región codificante debido a la baja variabilidad encontrada. Únicamente fueron encontrados dos sujetos homocigotos en la muestra control para

el polimorfismo Ile28Val, mientras que para los otros dos polimorfismos, Asp272Gly y Pro16Leu, no se pudo detectar ningún individuo portador de los alelos menos frecuentes, ni en el grupo de casos ni en el grupo de pacientes. Estas frecuencias se encuentran dentro de lo esperado en base a las descritas en otras poblaciones europeas.

Así pues, para el estudio de asociación genética sólo fue considerado el polimorfismo C-1018G de la zona promotora del gen HTR1A. Nuestros resultados mostraron que tanto las distribuciones alélicas como genotípicas en pacientes y en controles eran equivalentes, no encontrándose, por tanto, diferencias estadísticamente significativas. Asimismo, la variabilidad asociada al gen HTR1A tampoco parece relacionarse con ninguno de los síntomas o signos clínicos de interés analizados.

Por tanto, nuestros resultados no parecen indicar que la variación analizada en el gen del receptor de serotonina 5-HT_{1A} tenga un efecto importante en el riesgo para la depresión. Sin embargo no debe descartarse el interés de este gen y de su posible implicación en el origen de los trastornos afectivos, puesto que es posible que juegue un rol menor en su origen, cuyo efecto no hubiera podido ser detectado en nuestro estudio debido al tamaño muestral.

Capítulo 5 y 6

Polimorfismo 5-HTTLPR del gen SLC6A4 y polimorfismo C-1018G del gen HTR1A y farmacogenética del tratamiento con citalopram en depresión mayor

La respuesta clínica al tratamiento con fármacos en depresión es un fenómeno biológico altamente complejo en el que están implicados diversos factores, algunos de ellos de origen genético. Los Inhibidores Selectivos de la recaptación de Serotonina (ISRS) fueron desarrollados como fármacos de alta selectividad hacia su molécula diana, el transportador de serotonina, y han constituido unos de los avances más relevantes en el tratamiento farmacológico de la depresión desde finales de los años ochenta (Martin y cols, 1997). De todos los ISRSs disponibles en la actualidad, el citalopram es el más selectivo de todos ellos, puesto que a diferencia del resto de ISRS (que inhiben en mayor o menor grado otros sistemas neurotransmisores tales como el noradrenérgico o el dopaminérgico) el citalopram solo actúa a nivel del transportador de serotonina. Esta alta selectividad permite trabajar en los estudios farmacogenéticos y desde la perspectiva de la farmacodinamia, con una sola molécula diana, el transportador de serotonina.

Hasta el momento, todos los estudios previos basados en la farmacogenética de la depresión mayor han descrito la existencia de una influencia genética del transportador de serotonina en la respuesta clínica a diferentes ISRSs como la fluoxetina, la fluvoxamina o la paroxetina (Smeraldi y cols, 1998; Pollock y cols, 2000; Zanardi y cols, 2000; Rausch y cols, 2002).

En nuestro estudio longitudinal a 12 semanas, los resultados mostraron que la variabilidad asociada al transportador de serotonina no parece estar relacionada con la respuesta clínica a corto plazo (cuatro semanas). Sin embargo, dicha variabilidad

sí contribuye claramente a predecir la remisión clínica a la duodécima semana de un episodio de depresión mayor tratado con citalopram. El hecho de que la variación genética del transportador de serotonina pueda predecir la remisión clínica pero no la respuesta clínica a corto plazo, sugiere que un periodo de cuatro semanas no es suficiente ni para determinar si los pacientes responderán o no al tratamiento, ni tampoco para predecir su evolución clínica a medio-largo plazo. Estos resultados parecen confirmar lo que práctica clínica defiende: la mejoría de la sintomatología depresiva inducida por antidepresivos es lenta, necesitando, habitualmente, entre 6-12 semanas para ser evidente (Frazer and Benmansour, 2002).

Sin embargo, y dado que la respuesta farmacológica es un rasgo complejo, podemos suponer que otras moléculas, y por tanto otros genes, están implicados en la modulación de este proceso. En este sentido, diferentes autores han estudiado la variabilidad asociada a otros genes que codifican para proteínas involucradas en la neurotransmisión serotoninérgica como el gen de la triptófano hidroxilasa (Serretti y cols, 2001a; Serretti y cols, 2001b) o para proteínas implicadas en las vías de segundos mensajeros, como la subunidad β de la proteína G (Zill y cols, 2000). Ambos estudios encuentran una asociación entre un determinado alelo de los polimorfismos analizados y una peor respuesta clínica al tratamiento con ISRS.

En base a la importancia del receptor 5-HT_{1A} en la modulación de la respuesta a antidepresivos, nuestro estudio consideró el análisis de la variación genética del gen HTR1A, representando el primer abordaje de este gen en un estudio farmacogenético de la respuesta clínica a antidepresivos selectivos. Como ya hemos comentado anteriormente, este gen se perfila como un gen candidato de alto interés en este tipo de estudios debido al control que este receptor ejerce sobre la liberación de serotonina al espacio intersináptico y, en consecuencia sobre la homeostasis

neuronal. Adicionalmente, este receptor parece jugar un papel clave en algunos mecanismos secundarios de adaptación neurobiológicos que sufre la neurona tras el bloqueo del transportador de serotonina por los ISRS y cuya consecuencia más importante es el retraso que se produce en la aparición de la respuesta clínica una vez iniciado el tratamiento con antidepresivos (therapeutic lag) (Artigas y cols, 1996; Artigas y cols, 2001). Los ISRS producen un incremento de serotonina a nivel intersináptico que activa el receptor somatodendrítico 5-HT_{1A}. Esta activación provoca una inhibición del impulso eléctrico y por tanto la liberación de serotonina (Artigas y cols, 1996). El efecto de una administración a largo plazo de los antidepresivos ISRS se hipotetiza que induciría la desensibilización de estos autoreceptores, lo que provocaría un incremento gradual de la neurotransmisión serotoninérgica y, en último término, el inicio de la respuesta clínica en los pacientes depresivos (Blier and de Montigny, 1998).

Nuestro estudio pone de manifiesto la existencia de un efecto combinado entre los polimorfismos C-1018G (gen HTR1A) y 5-HTTLPR (SLC6A4) tanto en la evolución clínica de un episodio depresivo tratado con citalopram durante 12 semanas como en la predicción del estado de remisión. Sin embargo, uno de los principales problemas en este tipo de estudios es que los genes explorados no suelen estar únicamente involucrados en la respuesta al tratamiento farmacológico sino también en la vulnerabilidad para el trastorno en sí mismo. En referencia a este hecho, y tal y como se ha descrito en el manuscrito original, se analizó la distribución de frecuencias de ambos polimorfismos en una muestra control. La proporción de individuos portadores de la combinación S/S-G/G fue equivalente en ambos grupos, pacientes y controles, indicando que esta combinación genotípica parece no estar involucrada, *per se*, en un incremento de riesgo para la depresión mayor.

VIII. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

La depresión mayor es, sin duda, un fenotipo complejo, probablemente heterogéneo en su biología y en su etiología, en el que los factores ambientales juegan un papel determinante tanto como desencadenantes como moduladores del curso de la enfermedad. Los estudios de asociación genética pretenden ayudar a esclarecer algunos aspectos de esta heterogeneidad, aunque todavía nos encontremos lejos de comprender como se produce la interacción genes-ambiente.

Nuestros estudios sobre la variación genética de algunos genes que codifican para receptores serotoninérgicos nos han permitido detectar algunos efectos moderados y menores de variantes genéticas que podrían explicar, al menos, una parte de la variación del fenotipo clínico observado. En este sentido parece que el alelo C102 del polimorfismo 102T/C del gen del receptor de serotonina 5-HT_{2A}, podría ser un factor de riesgo genético menor. Así, nuestros resultados han puesto de manifiesto por un lado, su posible implicación en el curso estacional dentro de los episodios depresivos mayores, y por otro, su posible rol como factor de riesgo para el comportamiento suicida en pacientes diagnosticados de depresión mayor. Se puede concluir, por tanto, que el gen HTR2A podría explicar algunas formas de expresión clínica más severa de la depresión mayor.

Por el contrario, la variabilidad analizada en el gen HTR5A no parece jugar un papel relevante en el origen de la depresión mayor, ni modular la expresión clínica de la enfermedad.

Con respecto a los resultados obtenidos para el receptor de serotonina 5-HT_{1A}, cuya importancia funcional basada en la regulación de la neurotransmisión serotoninérgica y en la modulación de la respuesta a antidepresivos lo siguen

ubicando en una posición de máximo interés en los estudios de asociación en depresión mayor, muestran que la variación estudiada en la presente Tesis no parece conferir por sí misma un riesgo incrementado para la depresión mayor. Sin embargo, los resultados obtenidos en el estudio farmacogenético, que veremos a continuación, parecen prometedores.

Con respecto a la línea de farmacogenética, nuestros resultados ponen de manifiesto que ser portador del alelo corto (S) del polimorfismo 5-HTTLPR del gen del transportador de serotonina incrementa el riesgo de no remisión del episodio de depresivo al final de los tres meses de tratamiento con citalopram, aunque no parece estar modulando el tipo de respuesta a corto plazo (cuatro semanas).

Asimismo, y en referencia al estudio simultáneo del gen SLC6A4 y el gen HTR1A, nuestro estudio ha puesto de manifiesto que la combinación genotípica S/S (5-HTTLPR del gen SLC6A4) y G/G (C-1018G del gen HTR1A) se asocia a una peor evolución del episodio depresivo tratado con citalopram y se encuentra significativamente incrementada en el subgrupo de pacientes que no alcanzan la remisión del episodio a la duodécima semana.

Los resultados hallados en la presente Tesis son compatibles y apoyan la existencia de subgrupos biológicos dentro de la depresión mayor, así como la existencia de una heterogeneidad biológica y, quizás, etiopatogénica en este trastorno. Asimismo, los resultados obtenidos hasta el momento referentes a la respuesta clínica a antidepresivos muestran la importancia de las condiciones genéticas individuales en genes candidatos en la modulación de dicha respuesta.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- A.P.A.(1994) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Washington DC: American Psychiatric Association.
- Adham N, Kao HT, Schechter LE, Bard J, Olsen M, Urquhart D, Durkin M, Hartig PR, Weinschenk RL, Branchek TA (1993) Cloning of another human serotonin receptor (5-HT_{1F}): a fifth 5-HT₁ receptor subtype coupled to the inhibition of adenylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:408-412.
- Aghajanian GK, Lakoski JM (1984) Hyperpolarization of serotonergic neurons by serotonin and LSD: studies in brain slices showing increased K⁺ conductance. *Brain Res* 305:181-185.
- Aitman TJ (2001) DNA microarrays in medical practice. *Bmj* 323:611-615.
- Anderson IM (2000) Selective serotonin reuptake inhibitors versus tricyclic antidepressants: a meta-analysis of efficacy and tolerability. *J Affect Disord* 58:19-36.
- Angst J.(1966) Zur aetiologie und nosologie endogener depressiver psychosen. In: Monographien aus der neurowissenschaft und psychiatrie. Berlin: Springer-Verlag.
- Angst J, Dobler-Mikola A (1984) Do the diagnostic criteria determine the sex ratio in depression? *J Affect Disord* 7:189-198.
- Arango V, Ernsberger P, Marzuk PM, Chen JS, Tierney H, Stanley M, Reis DJ, Mann JJ (1990) Autoradiographic demonstration of increased serotonin 5-HT₂ and beta-adrenergic receptor binding sites in the brain of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* 47:1038-1047.
- Argentiero V, Tavolato B (1980) Dopamine (DA) and serotonin metabolic levels in the cerebrospinal fluid (CSF) in Alzheimer's presenile dementia under basic conditions and after stimulation with cerebral cortex phospholipids (BC-PL). *J Neurol* 224:53-58.
- Arias B, Arranz MJ, Gasto C, Catalan R, Pintor L, Gutierrez B, Kerwin RW, Fananas L (2002) Analysis of structural polymorphisms and C-1018G promoter variant of the 5-HT_{1A} receptor gene as putative risk factors in major depression. *Mol Psychiatry* 7:930-932.
- Arora RC, Meltzer HY (1989) Increased serotonin₂ (5-HT₂) receptor binding as measured by 3H-lysergic acid diethylamide (3H-LSD) in the blood platelets of depressed patients. *Life Sci* 44:725-734.
- Arranz MJ, Collier DA, Munro J, Sham P, Kirov G, Sodhi M, Roberts G, Price J, Kerwin RW (1996) Analysis of a structural polymorphism in the 5-HT_{2A} receptor and clinical response to clozapine. *Neurosci Lett* 217:177-178.
- Arranz MJ, Munro J, Birkett J, Bolonna A, Mancama D, Sodhi M, Lesch KP, Meyer JF, Sham P, Collier DA, Murray RM, Kerwin RW (2000) Pharmacogenetic prediction of clozapine response. *Lancet* 355:1615-1616.
- Artigas F, Celada P, Laruelle M, Adell A (2001) How does pindolol improve antidepressant action? *Trends Pharmacol Sci* 22:224-228.
- Artigas F, Romero L, de Montigny C, Blier P (1996) Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT_{1A} antagonists. *Trends Neurosci* 19:378-383.
- Asberg M, Bertilsson L, Martensson B, Scalia-Tomba GP, Thoren P, Traskman-Bendz L (1984) CSF monoamine metabolites in melancholia. *Acta Psychiatr Scand* 69:201-219.
- Axelrod J, Weil-Malherve H, Tomchick R (1959) The physiological disposition of 3H-epinephrine and its metabolite, metanephrine. *Pharmacol Exp Ther* 127:251-256.
- Azmitia EC (1999) Serotonin neurons, neuroplasticity, and homeostasis of neural tissue. *Neuropsychopharmacology* 21:33S-45S.
- Bagdy G, Calogero AE, Aulakh CS, Szemerédi K, Murphy DL (1989) Long-term cortisol treatment impairs behavioral and neuroendocrine responses to 5-HT₁ agonists in the rat. *Neuroendocrinology* 50:241-247.
- Barklage NE.(1991) Evaluation and management of suicidal patients. In: *Emergency Care Quarterly*. p 9-17.
- Baumann P, Nil R, Souche A, Montaldi S, Baettig D, Lambert S, Uehlinger C, Kasas A, Amez M, Jonzier-Perey M (1996) A double-blind, placebo-controlled study of citalopram with and without lithium in the treatment of therapy-resistant depressive patients: a

- clinical, pharmacokinetic, and pharmacogenetic investigation. *J Clin Psychopharmacol* 16:307-314.
- Bellivier F, Szoke A, Henry C, Lacoste J, Bottos C, Nosten-Bertrand M, Hardy P, Rouillon F, Launay JM, Laplanche JL, Leboyer M (2000) Possible association between serotonin transporter gene polymorphism and violent suicidal behavior in mood disorders. *Biol Psychiatry* 48:319-322.
- Belsher G, Costello CG (1988) Relapse after recovery from unipolar depression: a critical review. *Psychol Bull* 104:84-96.
- Bennett AJ, Lesch KP, Heils A, Long JC, Lorenz JG, Shoaf SE, Champoux M, Suomi SJ, Linnoila MV, Higley JD (2002) Early experience and serotonin transporter gene variation interact to influence primate CNS function. *Mol Psychiatry* 7:118-122.
- Berrios GE (1988) Melancholia and depression during the 19th century: a conceptual history. *Br J Psychiatry* 153:298-304.
- Bertilsson L, Dahl ML (1996) Polymorphic drug oxidation. Relevance to the treatment of psychiatric disorders. *CNS Drugs* 5.
- Bhagwagar Z, Whale R, Cowen PJ (2002) State and trait abnormalities in serotonin function in major depression. *Br J Psychiatry* 180:24-28.
- Biegon A, Weizman A, Karp L, Ram A, Tiano S, Wolff M (1987) Serotonin 5-HT₂ receptor binding on blood platelets--a peripheral marker for depression? *Life Sci* 41:2485-2492.
- Bierut LJ, Heath AC, Bucholz KK, Dinwiddie SH, Madden PA, Statham DJ, Dunne MP, Martin NG (1999) Major depressive disorder in a community-based twin sample: are there different genetic and environmental contributions for men and women? *Arch Gen Psychiatry* 56:557-563.
- Birkett JT, Arranz MJ, Munro J, Osbourn S, Kerwin RW, Collier DA (2000) Association analysis of the 5-HT_{2A} gene in depression, psychosis and antipsychotic response [In Process Citation]. *Neuroreport* 11:2017-2020.
- Bissette G, Klimek V, Pan J, Stockmeier C, Ordway G (2003) Elevated concentrations of CRF in the locus coeruleus of depressed subjects. *Neuropsychopharmacology* 28:1328-1335.
- Biver F, Lotstra F, Monclus M, Wikler D, Damhaut P, Mendlewicz J, Goldman S (1996) Sex difference in 5HT₂ receptor in the living human brain. *Neurosci Lett* 204:25-28.
- Blier P, de Montigny C (1998) Possible serotonergic mechanisms underlying the antidepressant and anti- obsessive-compulsive disorder responses. *Biol Psychiatry* 44:313-323.
- Blier P, de Montigny C, Chaput Y (1987) Modifications of the serotonin system by antidepressant treatments: implications for the therapeutic response in major depression. *J Clin Psychopharmacol* 7:24S-35S.
- Bockaert J, Ansanely H, Weeber C, al. e (1994) 5-HT₄ receptors potential therapeutic implications in neurology and psychiatry. *CNS Drugs* 1:6-15.
- Boess FG, Martin IL (1994) Molecular biology of 5-HT receptors. *Neuropharmacology* 33:275-317.
- Bondy B, Kuznik J, Baghai TC, Schule C, Zwanzger P, Minov C, de Jonge S, Rupprecht R, Meyer H, Engel RR, Eisenmenger W, Ackenheil M (2000) Lack of association of serotonin 2A receptor gene polymorphism (T102C) with suicidal ideation. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 96.
- Bonhaus DW, Bach C, DeSouza A, Salazar FH, Matsuoka BD, Zuppan P, Chan HW, Eglén RM (1995) The pharmacology and distribution of human 5-hydroxytryptamine_{2B} (5-HT_{2B}) receptor gene products: comparison with 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Br J Pharmacol* 115:622-628.
- Borg S, Kvande H, Liljeberg P, Mossberg D, Valverius P (1985) 5-Hydroxyindoleacetic acid in cerebrospinal fluid in alcoholic patients under different clinical conditions. *Alcohol* 2:415-418.

- Bourson A, Borroni E, Austin RH, Monsma FJ, Jr., Sleight AJ (1995) Determination of the role of the 5-HT₆ receptor in the rat brain: a study using antisense oligonucleotides. *J Pharmacol Exp Ther* 274:173-180.
- Boyce P, Parker G, Barnett B, Cooney M, Smith F (1991) Personality as a vulnerability factor to depression. *Br J Psychiatry* 159:106-114.
- Bradley PB. (1989) Introduction to neuropharmacology: Butterworth and Co.
- Briley MS, Raisman R, Sechter D, Zarifian E, Langer SZ (1980) [3H]-Imipramine binding in human platelets: a new biochemical parameter in depression. *Neuropharmacology* 19:1209-1210.
- Brookes A (1999) The essence of SNPs. *Gene* 234:177-186.
- Brosen K (1996) Drug-metabolizing enzymes and therapeutic drug monitoring in psychiatry. *Ther Drug Monit* 18:393-396.
- Brown GW (1998) Genetic and population perspectives on life events and depression. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 33:363-372.
- Bunney WE, Bunney BG, Vawter MP, Tomita H, Li J, Evans SJ, Choudary PV, Myers RM, Jones EG, Watson SJ, Akil H (2003) Microarray technology: a review of new strategies to discover candidate vulnerability genes in psychiatric disorders. *Am J Psychiatry* 160:657-666.
- Bunney WE, Jr., Davis JM (1965) Norepinephrine in depressive reactions. A review. *Arch Gen Psychiatry* 13:483-494.
- Bursen SC (1999) Pharmacogenetics. *Pharmacist's letter* 15:31.
- Buus Lassen J (1978) Influence of the new 5-HT uptake inhibitor paroxetine on hypermotility in rats produced by p-chloroamphetamine (PCA) and 4, alpha-dimethyl-m-tryramine (H77/77). *Psychopharmacology* 57:151-153.
- Caraco Y (1998) Genetic determinants of drug responsiveness and drug interactions. *Ther Drug Monit* 20:517-524.
- Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, McClay J, Mill J, Martin J, Braithwaite A, Poulton R (2003) Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 301:386-389.
- Cassem EH (1995) Depressive disorders in the medically ill. An overview. *Psychosomatics* 36:S2-10.
- Catalan R, Gallart JM, Castellanos M, Galard R (1998) Plasma corticotropin-releasing factor in depressive disorders. *Biological Psychiatry* 44:15-20.
- Catalan R, Vallejo J, Gasto C, Otero A (1997) Prediction of relapse in melancholic outpatients. *Biol Psychiatry* 42:225S.
- Catalano M (1999) The challenges of psychopharmacogenetics. *Am J Hum Genet* 65:606-610.
- Charney DS, Goodman WK, Price LH, Woods SW, Rasmussen SA, Heninger GR (1988) Serotonin function in obsessive-compulsive disorder. A comparison of the effects of tryptophan and m-chlorophenylpiperazine in patients and healthy subjects. *Arch Gen Psychiatry* 45:177-185.
- Charney DS, Menkes DB, Heninger GR (1981) Receptor sensitivity and the mechanism of action of antidepressant treatment. Implications for the etiology and therapy of depression. *Arch Gen Psychiatry* 38:1160-1180.
- Charney DS, Southwick SM, Delgado PL, Krystal JH. (1990) Current status of the receptor sensitivity hypothesis of antidepressant action: implications for the treatment of severe depression. In: Amsterdam JD, editor. *Pharmacotherapy of severe depression*. Basel: Marcel Dekker. p 13-34.
- Chen K, Yang W, Grimsby J, Shih JC (1992) The human 5-HT₂ receptor is encoded by a multiple intron-exon gene. *Brain Res Mol Brain Res* 14:20-26.
- Christensen AV, Fjalland B, Pedersen V, Danneskiold-Samsøe P, O. S (1977) Pharmacology of a new phthalane (Lu 10-171), with specific 5-HT uptake inhibiting properties. *Eur J Pharmacol* 41:153-162.
- Chrousos GP, Gold PW (1992) The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama* 267:1244-1252.

- Claassen V (1983) Review of the animal pharmacology and pharmacokinetics of fluvoxamine. *Br J Clin Pharmacol* 15:349S-355S.
- Coccaro EF, Siever LJ, Klar HM, Maurer G, Cochrane K, Cooper TB, Mohs RC, Davis KL (1989) Serotonergic studies in patients with affective and personality disorders. Correlates with suicidal and impulsive aggressive behavior. *Arch Gen Psychiatry* 46:587-599.
- Cohen LJ, De Vane CL (1996) Clinical implications of antidepressant pharmacokinetics and pharmacogenetics. *Ann Pharmacother* 30:1471-1480.
- Collier DA, Arranz MJ, Li T, Mupita D, Brown N, Treasure J (1997) Association between 5-HT2A gene promoter polymorphism and anorexia nervosa. *Lancet* 350:412.
- Collier DA, Stober G, Li T, Heils A, Catalano M, Di Bella D, Arranz MJ, Murray RM, Vallada HP, Bengel D, Muller CR, Roberts GW, Smeraldi E, Kirov G, Sham P, Lesch KP (1996) A novel functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene: possible role in susceptibility to affective disorders. *Mol Psychiatry* 1:453-460.
- Connor TJ, Leonard BE (1998) Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci* 62:583-606.
- Conte HR, Karasu TB (1992) A review of treatment studies of minor depression: 1980-1991. *Am J Psychother* 46:58-74.
- Coplan JD, Andrews MW, Rosenblum LA, Owens MJ, Friedman S, Gorman JM, Nemeroff CB (1996) Persistent elevations of cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing factor in adult nonhuman primates exposed to early-life stressors: implications for the pathophysiology of mood and anxiety disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:1619-1623.
- Coppen A (1967) The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry* 113:1237-1264.
- Coppen A, Eccleston E, Craft I, Bye P (1973) Letter: Total and free plasma-tryptophan concentration and oral contraception. *Lancet* 2:1498.
- Coppen A, Wood K (1978) Tryptophan and depressive illness. *Psychol Med* 8:49-57.
- Coryell W, Akiskal HS, Leon AC, Winokur G, Maser JD, Mueller TI, Keller MB (1994) The time course of nonchronic major depressive disorder. Uniformity across episodes and samples. National Institute of Mental Health Collaborative Program on the Psychobiology of Depression--Clinical Studies. *Arch Gen Psychiatry* 51:405-410.
- Coryell W, Endicott J, Keller MB (1991) Predictors of relapse into major depressive disorder in a nonclinical population. *Am J Psychiatry* 148:1353-1358.
- Cowen PJ, Anderson IM, Grahame-Smith DG (1990) Neuroendocrine effects of azapirones. *J Clin Psychopharmacol* 10:21S-25S.
- Crawford J, Sutherland GR, Goldney RD (2000) No evidence for association of 5-HT2A receptor polymorphism with suicide. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 96:879-880.
- Cremers TI, Spoelstra EN, de Boer P, Bosker FJ, Mork A, den Boer JA, Westerink BH, Wikstrom HV (2000) Desensitisation of 5-HT autoreceptors upon pharmacokinetically monitored chronic treatment with citalopram. *Eur J Pharmacol* 397:351-357.
- Curzon G. (1996) Brain tryptophan: normal and disturbed control. In: Allegrì-Filippini G, Costa CVL, Bertazzo A, editors. *Recent advances in tryptophan research*. New York: Plenum. p 27-34.
- Cusin C, Serretti A, Zanardi R, Lattuada E, Rossini D, Lilli R, Lorenzi C, Smeraldi E (2002) Influence of monoamine oxidase A and serotonin receptor 2A polymorphisms in SSRI antidepressant activity. *Int J Neuropsychopharmacol* 5:27-35.
- Dahl ML (2002) Cytochrome p450 phenotyping/genotyping in patients receiving antipsychotics: useful aid to prescribing? *Clin Pharmacokinet* 41:453-470.
- Dahlstrom A, Fuxe K (1964) Evidence for the existence monoamine-containing neurons in the central nervous system. *Acta Physiologica Scand* 62 (Suppl):1-55.
- Daly MJ, Rioux JD, Schaffner SF, Hudson TJ, Lander ES (2001) High-resolution haplotype structure in the human genome. *Nat Genet* 29:229-232.

- D'Amato RJ, Zweig RM, Whitehouse PJ, Wenk GL, Singer HS, Mayeux R, Price DL, Snyder SH (1987) Aminergic systems in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Ann Neurol* 22:229-236.
- De Vry J (1995) 5-HT_{1A} receptor agonists: recent developments and controversial issues. *Psychopharmacology* 121:1-26.
- De Vry J, Schrieber R, Glazer T.(1991) Behavioural pharmacology of the 5-HT_{1A} receptor ligands ipsapirone and 8-OH-DPAT in rats after repeated administration. In: Stahl S, Gastpar M, Keppel Hesselink JM, editors. Serotonin 1A receptors in depression and anxiety. New York: Raven Press. p 55-81.
- Delgado PL, Price DL, Heninger GF, Charney DS.(1992) Neurochemistry. In: Payker ES, editor. *Handbook of Affective Disorders*. London: Churchill Livingstone. p 219-253.
- Dempster AP, Laird NM, Rubin DB (1977) Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *J R Stat Soc* 39:1-38.
- Devanand DP, Dwork AJ, Hutchinson ER, Bolwig TG, Sackeim HA (1994) Does ECT alter brain structure? *Am J Psychiatry* 151:957-970.
- D'Haenen H, Bossuyt A, Mertens J, Bossuyt-Piron C, Gijsemans M, Kaufman L (1992) SPECT imaging of serotonin₂ receptors in depression. *Psychiatry Res* 45:227-237.
- Dickinson SL, Curzon G (1986) 5-Hydroxytryptamine-mediated behaviour in male and female rats. *Neuropharmacology* 25:771-776.
- DiMascio A, Klerman GL, Weissman MM, Prusoff BA, Neu C, Moore P (1979) A control group for psychotherapy research in acute depression: one solution to ethical and methodologic issues. *J Psychiatr Res* 15:189-197.
- Doris A, Ebmeier K, Shajahan P (1999) Depressive illness. *Lancet* 354:1369-1375.
- Du L, Bakish D, Lapierre YD, Ravindran AV, Hrdina PD (2000) Association of polymorphism of serotonin 2A receptor gene with suicidal ideation in major depressive disorder. *Am J Med Genet* 96:56-60.
- Du L, Faludi G, Palkovits M, Demeter E, Bakish D, Lapierre YD, Sotonyi P, Hrdina PD (1999) Frequency of long allele in serotonin transporter gene is increased in depressed suicide victims. *Biol Psychiatry* 46:196-201.
- Dubovsky SL, Thomas M (1992) Psychotic depression: advances in conceptualization and treatment. *Hosp Community Psychiatry* 43:1189-1198.
- Dubovsky SL, Thomas M (1995) Serotonergic mechanisms and current and future psychiatric practice. *J Clin Psychiatry* 56 Suppl 2:38-48.
- Dunlop SR, Dornseif BE, Wernicke JF, Potvin JH (1990) Pattern analysis shows beneficial effect of fluoxetine treatment in mild depression. *Psychopharmacol Bull* 26:173-180.
- Eaton WO, Burdz MP (1984) Gender understanding and the similar sequence hypothesis. *Am J Ment Defic* 89:23-28.
- Elkin I, Shea MT, Watkins JT, Imber SD, Sotsky SM, Collins JF, Glass DR, Pilkonis PA, Leber WR, Docherty JP, et al. (1989) National Institute of Mental Health Treatment of Depression Collaborative Research Program. General effectiveness of treatments. *Arch Gen Psychiatry* 46:971-982; discussion 983.
- Endicott J, Andreasen N, Spitzer RL.(1975) Family History-Research Diagnostic Criteria. In: New York State Psychiatric Institute, editor. Anonymous New York: Biometrics Research, New York.
- Endicott J, Spitzer RL (1987) Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia (SADS). *Acta Psychiatr Belg* 87:361-516.
- Enoch MA, Goldman D, Barnett R, Sher L, Mazzanti CM, Rosenthal NE (1999) Association between seasonal affective disorder and the 5-HT_{2A} promoter polymorphism, -1438G/A. *Mol Psychiatry* 4:89-92.
- Enserick M (1999) Can placebo be the cure. *Science* 184:196-204.
- Erdmann J, Shimron-Abarbanell D, Cichon S, Albus M, Maier W, Lichtermann D, Mingos J, Reuner U, Franzeck E, Ertl MA, et al. (1995) Systematic screening for mutations in the promoter and the coding region of the 5-HT_{1A} gene. *Am J Med Genet* 60:393-399.
- Erdmann J, Shimron-Abarbanell D, Rietschel M, Albus M, Maier W, Korner J, Bondy B, Chen K, Shih JC, Knapp M, Propping P, Nothen MM (1996) Systematic screening for

- mutations in the human serotonin-2A (5-HT_{2A}) receptor gene: identification of two naturally occurring receptor variants and association analysis in schizophrenia. *Hum Genet* 97:614-619.
- Excoffier L, Slatkin M (1995) Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. *Mol Biol Evol* 12:921-927.
- Falk CT, Rubinstein P (1987) Haplotype relative risks: an easy reliable way to construct a proper control sample for risk calculations. *Ann Hum Genet* 51 (Pt 3):227-233.
- Fava M, Davidson KG (1996) Definition and epidemiology of treatment-resistant depression. *Psychiatr Clin North Am* 19:179-200.
- Flugge G (1995) Dynamics of central nervous 5-HT_{1A}-receptors under psychosocial stress. *J Neurosci* 15:7132-7140.
- Foguet M, Nguyen H, Le H, Lubbert H (1992) Structure of the mouse 5-HT_{1C}, 5-HT₂ and stomach fundus serotonin receptor genes. *Neuroreport* 3:345-348.
- Fozard JR.(1992) 5-HT_{1C} receptor agonism as an initiating event in migraine. In: Olesen J, Saxen PR, editors. 5-Hydroxytryptamine mechanism in primary headaches. New York: Raven Press. p 200-212.
- Frank E, Prien RF, Jarrett RB, Keller MB, Kupfer DJ, Lavori PW, Rush AJ, Weissman MM (1991) Conceptualization and rationale for consensus definitions of terms in major depressive disorder. Remission, recovery, relapse, and recurrence. *Arch Gen Psychiatry* 48:851-855.
- Frazer A, Benmansour S (2002) Delayed pharmacological effects of antidepressants. *Mol Psychiatry* 7 Suppl 1:S23-28.
- Frisch A, Postilnick D, Rockah R, Michaelovsky E, Postilnick S, Birman E, Laor N, Rauchverger B, Kreinin A, Poyurovsky M, Schneidman M, Modai I, Weizman R (1999) Association of unipolar major depressive disorder with genes of the serotonergic and dopaminergic pathways. *Mol Psychiatry* 4:389-392.
- Gangadhar BN, Janakiramaiah N (1993) Seizure duration, estimation: definition vs. ECT device model. *Biol Psychiatry* 33:394.
- Garrod AE (1902) The incidence of alcaptonuria: a study in chemical individuality. *Lancet* ii:1616-1620.
- Garrod AE.(1909) Inborn errors of metabolism. New York: Oxford University Press.
- Gasto C (1998) Biological basis of mood disorders. *Psicologia Conductual* 6:217-252.
- Gelenberg AJ, Chesen CL (2000) How fast are antidepressants? *J Clin Psychiatry* 61:712-721.
- Gelernter J, Pakstis AJ, Kidd KK (1995) Linkage mapping of serotonin transporter protein gene SLC6A4 on chromosome 17. *Hum Genet* 95:677-680.
- Glennon RA, Westkaemper RB (1993) 5-HT_{1D} receptors: a serotonin receptors population for the 1990s. *Drugs* 3:317-334.
- Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP (1988) Clinical and biochemical manifestations of depression. Relation to the neurobiology of stress (2). *N Engl J Med* 319:413-420.
- Goldberg DP, Hillier VF (1979) Scaled version of the general health questionnaire. *Psychological Medicine* 9:139-145.
- Goldstein DB (2001) Islands of linkage disequilibrium. *Nat Genet* 29:109-111.
- Goodwin FK JK.(1990) Manic Depressive Illness. In. New York: NY: Oxford Press-. p 44,135,230.
- Goodwin FK, Post RM.(1975) Studies of amine metabolites in affective illness and schizophrenia: a comparative analysis. In: Freidman DQ, cols y, editors. Biology of the major psychoses. New York: Raven Press. p 299-332.
- Group DUA (1986) Citalopram: clinical effect profile in comparison with clomipramine. A controlled multicenter study. *Psychopharmacology (Berl)* 90:131-138.
- Group DUA (1990) Paroxetine: a selective serotonin reuptake inhibitor showing better tolerance, but weaker antidepressant effect than clomipramine in a controlled multicenter study. *J Affect Disord* 18:289-299.
- Guislain J.(1852) Leçons orales sur les phéropaties ou traité theorique et pratique des maladies mentales. Paris.

- Guscott R, Grof P (1991) The clinical meaning of refractory depression: a review for the clinician. *Am J Psychiatry* 148:695-704.
- Gutierrez B, Fananas L, Arranz MJ, Valles V, Guilamat R, van Os J, Collier D (1996) Allelic association analysis of the 5-HT_{2C} receptor gene in bipolar affective disorder. *Neurosci Lett* 212:65-67.
- Gutierrez B, Pintor L, Gasto C, Rosa A, Bertranpetit J, Vieta E, Fananas L (1998) Variability in the serotonin transporter gene and increased risk for major depression with melancholia. *Hum Genet* 103:319-322.
- Gutierrez B, Rosa A.(2000) Introducción a la metodología para la identificación de los factores hereditarios. In: Fañanás L, Saiz J, editors. Manual de introducción a la genética en psiquiatría. Barcelona: Masson. p 37-66.
- Guze SB, Robins E (1970) Suicide and primary affective disorders. *Br J Psychiatry* 117:437-438.
- Hamilton M (1970) A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 23:51-56.
- Harada S, Okubo T, Tsutsumi M, Takase S, Muramatsu T (1996) Investigation of genetic risk factors associated with alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 20:293-296.
- Hariri AR, Mattay VS, Tessitore A, Kolachana B, Fera F, Goldman D, Egan MF, Weinberger DR (2002) Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science* 297:400-403.
- Hartig PR (1989) Molecular biology of 5-HT receptors. *Trends Pharmacol Sci* 10:64-69.
- Hartig PR, Branchek TA, Weinshank RL (1992) A subfamily of 5-HT_{1D} receptor genes. *Trends Pharmacol Sci* 13:152-159.
- Heils A, Mossner R, Lesch KP (1997) The human serotonin transporter gene polymorphism--basic research and clinical implications. *J Neural Transm* 104:1005-1014.
- Hen R (1992) Of mice and flies: commonalities among 5-HT receptors. *Trends Pharmacol Sci* 13:160-165.
- Hervas I, Vilaro MT, Romero L, Scorza MC, Mengod G, Artigas F (2001) Desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors by a low chronic fluoxetine dose effect of the concurrent administration of WAY-100635. *Neuropsychopharmacology* 24:11-20.
- Hollander E, Decaria C, Schneier F. 1989. Neuroendocrine sensitivity in obsessive compulsive disorder. In: American Psychiatric Association 142nd Annual Meeting. p 187.
- Hollon SD, DeRubeis RJ, Evans MD, Wiemer MJ, Garvey MJ, Grove WM, Tuason VB (1992) Cognitive therapy and pharmacotherapy for depression. Singly and in combination. *Arch Gen Psychiatry* 49:774-781.
- Holsboer F (2000) The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology* 23:477-501.
- Housman D, Ledley FD (1998) Why pharmacogenomics? Why now? *Nat Biotechnol* 16:492-493.
- Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, Saxena PR, Humphrey PP (1994) International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev* 46:157-203.
- Hrdina PD, Bakish D, Chudzik J, Ravindran A, Lapierre YD (1995) Serotonergic markers in platelets of patients with major depression: upregulation of 5-HT₂ receptors. *J Psychiatry Neurosci* 20:11-19.
- Hrdina PD, Demeter E, Vu TB, Sotonyi P, Palkovits M (1993) 5-HT uptake sites and 5-HT₂ receptors in brain of antidepressant-free suicide victims/depressives: increase in 5-HT₂ sites in cortex and amygdala. *Brain Res* 614:37-44.
- Hucks D, Lowther S, Crompton MR, Katona CLE, Horton RW (1997) Corticotropin-releasing factor binding sites in cortex of depressed suicides. *Psychopharmacology* 134:174-178.
- Hyttel J (1977) Neurochemical characterization of a new potent and selective serotonin uptake inhibitor, Lu 10-171. *Psychopharmacology* 51:225-233.

- Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, McLellan RA (1999) Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci* 20:342-349.
- Janicak PG, Mask J, Trimakas KA, Gibbons R (1985) ECT: an assessment of mental health professionals' knowledge and attitudes. *J Clin Psychiatry* 46:262-266.
- Jefferson JW, Greist JH.(1996) Trastornos del estado de ánimo. In: Hales RE, cols y, editors. *Tratado de Psiquiatría*. Barcelona: Ancora S.A. p 491-522.
- Jimerson DC, Lesem MD, Kaye WH (1989) Serotonin and symptom severity in eating disorders. *Biol Psychiatry* 25:143.
- Johnson GC, Esposito L, Barratt BJ, Smith AN, Heward J, Di Genova G, Ueda H, Cordeil HJ, Eaves IA, Dudbridge F, Twells RC, Payne F, Hughes W, Nutland S, Stevens H, Carr P, Tuomilehto-Wolf E, Tuomilehto J, Gough SC, Clayton DG, Todd JA (2001) Haplotype tagging for the identification of common disease genes. *Nat Genet* 29:233-237.
- Judd LL (1997) The clinical course of unipolar major depressive disorders. *Arch Gen Psychiatry* 54:989-991.
- Julius D (1991) Molecular biology of serotonin receptors. *Annu Rev Neurosci* 14:335-360.
- Kalow W.(1962) Pharmacogenetics- heredity and the responses to drugs. Philadelphia.
- Kantor S, Graf M, Anheuer ZE, Bagdy G (2001) Rapid desensitization of 5-HT(1A) receptors in Fawn-Hooded rats after chronic fluoxetine treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 11:15-24.
- Kaplan RD, Mann JJ (1982) Altered platelet serotonin uptake kinetics in schizophrenia and depression. *Life Sci* 31:583-588.
- Kaplan RD, Sadock BJ, Greeb JA.(1996) Trastornos del estado de ánimo. In: Kaplan RD, Sadock BJ, Greeb JA, editors. *Sinopsis de Psiquiatría*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana. p 530-587.
- Kashani JH NJ.(1995) Affective/Mood disorders. In: JM W, editor. *Diagnosis and Psychopharmacology*, 2nd edition ed. New York. p 229-263.
- Kasper S, Wehr TA, Bartko JJ, Gaist PA, Rosenthal NE (1989) Epidemiological findings of seasonal changes in mood and behavior. A telephone survey of Montgomery County, Maryland. *Arch Gen Psychiatry* 46:823-833.
- Kawanishi Y, Harada S, Tachikawa H, Okubo T, Shiraiishi H (1998) Novel mutations in the promoter and coding region of the human 5-HT1A receptor gene and association analysis in schizophrenia. *Am J Med Genet* 81:434-439.
- Kaye WH, Gwirtsman HE, Brewerton TD, George DT, Wurtman RJ (1988) Bingeing behavior and plasma amino acids: a possible involvement of brain serotonin in bulimia nervosa. *Psychiatry Res* 23:31-43.
- Keitner GI, Ryan CE, Miller IW, Kohn R, Epstein NB (1991) 12-month outcome of patients with major depression and comorbid psychiatric or medical illness (compound depression). *Am J Psychiatry* 148:345-350.
- Keller MB (1994) Dysthymia in clinical practice:course, outcome and impact on the community. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 383:24-34.
- Keller MB, Hanks DL, Klein DN (1996) Summary of the DSM-IV mood disorders field trial and issue overview. *Psychiatr Clin North Am* 19:1-28.
- Keller MB, Klerman GL, Lavori PW, Coryell W, Endicott J, Taylor J (1984) Long-term outcome of episodes of major depression. Clinical and public health significance. *Jama* 252:788-792.
- Kendler KS (1997) The diagnostic validity of melancholic major depression in a population-based sample of female twins. *Arch Gen Psychiatry* 54:299-304.
- Kendler KS, Karkowski LM, Prescott CA (1999) Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *Am J Psychiatry* 156:837-841.
- Kendler KS, Pedersen NL, Neale MC, Mathe AA (1995) A pilot Swedish twin study of affective illness including hospital- and population-ascertained subsamples: results of model fitting. *Behav Genet* 25:217-232.

- Kendler KS, Prescott CA (1999) A population-based twin study of lifetime major depression in men and women. *Arch Gen Psychiatry* 56:39-44.
- Kennett GA, Curzon G (1991) Potencies of antagonists indicate that 5-HT_{1C} receptors mediate 1-3(chlorophenyl)piperazine-induced hypophagia. *Br J Pharmacol* 103:2016-2020.
- Kerwin RW, Arranz MJ.(2002) Psychopharmacogenetics. In: McGuffin P, Owen MJ, Gottesman I, editors. *Psychiatric Genetics & Genomics*. New York: Oxford University Press.
- Kessler RC (1997) The effects of stressful life events on depression. *Annu Rev Psychol* 48:191-214.
- Kessler RC, McGonagle KA, Zhao S, Nelson CB, Hughes M, Eshleman S, Wittchen HU, Kendler KS (1994) Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry* 51:8-19.
- Kilpatrick GJ, Bunce KT, Tyers MB (1990) 5-HT₃ receptors. *Med Res Rev* 10:441-475.
- Kjelsberg MA, Cotecchia S, Ostrowski J, Caron MG, Lefkowitz RJ (1992) Constitutive activation of the alpha 1B-adrenergic receptor by all amino acid substitutions at a single site. Evidence for a region which constrains receptor activation. *J Biol Chem* 267:1430-1433.
- Kobilka BK, Frielle T, Collins S, Yang-Feng T, Kobilka TS, Francke U, Lefkowitz RJ, Caron MG (1987) An intronless gene encoding a potential member of the family of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *Nature* 329:75-79.
- Koe BK, Weissman A, Welch WM, Browne RG (1983) Sertraline, 1s,4s-N-Methyl-4-(3,4-Dichlorophenyl)-1,2,3,4- Tetrahydro-1-Naphthylamine, a New Uptake Inhibitor with Selectivity for Serotonin. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 226:686-700.
- Krebs-Thomson K, Paulus MP, Geyer MA (1998) Effects of hallucinogens on locomotor and investigatory activity and patterns: influence of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Neuropsychopharmacology* 18:339-351.
- Kuehner C (2003) Gender differences in unipolar depression: an update of epidemiological findings and possible explanations. *Acta Psychiatr Scand* 108:163-174.
- Kursar JD, Nelson DL, Wainscott DB, Baez M (1994) Molecular cloning, functional expression, and mRNA tissue distribution of the human 5-hydroxytryptamine_{2B} receptor. *Mol Pharmacol* 46:227-234.
- Lapin I, Oxenkrug GF (1969) Intensification of the central serotonergic processes as a possible determinant of the thymoleptic effect. *Lancet* 1:132-136.
- Le Quan-Bui KH, Plaisant O, Leboyer M, Gay C, Kamal L, Devynck MA, Meyer P (1984) Reduced platelet serotonin in depression. *Psychiatry Res* 13:129-139.
- Leonard B.(1997) *Fundamentals of Psychopharmacology*. New York: Wiley and Sons.
- Leonhardt K.(1957) *Aufteilung der endogene psychosen*. Berlin: Akademik.
- Leonhardt S, Herrick-Davis K, Titeler M (1989) Detection of a novel serotonin receptor subtype (5-HT_{1E}) in human brain: interaction with a GTP-binding protein. *J Neurochem* 53:465-471.
- Lesch KP, Balling U, Gross J, Strauss K, Wolozin BL, Murphy DL, Riederer P (1994) Organization of the human serotonin transporter gene. *J Neural Transm Gen Sect* 95:157-162.
- Lesch KP, Bengel D, Heils A, Sabol SZ, Greenberg BD, Petri S, Benjamin J, Muller CR, Hamer DH, Murphy DL (1996) Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 274:1527-1531.
- Lesch KP, Benninghoff J, Schmitt A.(2002) The psychopharmacogenetic-neurodevelopmental interface in serotonergic gene pathways. In: Lerer B, editor. *Pharmacogenetics of psychotropic drugs*. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press. p 95-126.

- Lesch KP, Mayer S, Disselkamp-Tietze J, Hoh A, Schoellnhammer G, Schulte HM (1990) Subsensitivity of the 5-hydroxytryptamine_{1A} (5-HT_{1A}) receptor-mediated hypothermic response to ipsapirone in unipolar depression. *Life Sci* 46:1271-1277.
- Lewontin RC (1964) The interaction of selection and linkage. I General Considerations: heterotic models. *Genetics* 49:49-67.
- Lima MS, Moncrieff J (2000) A comparison of drugs versus placebo for the treatment of dysthymia. *Cochrane Database Syst Rev*:CD001130.
- Lin KM, Poland RE, Wan YJ, Smith MW, Lesser IM (1996) The evolving science of pharmacogenetics: clinical and ethnic perspectives. *Psychopharmacol Bull* 32:205-217.
- Linder MW, Prough RA, Valdes R, Jr. (1997) Pharmacogenetics: a laboratory tool for optimizing therapeutic efficiency. *Clin Chem* 43:254-266.
- Linder MW, Valdes R, Jr. (1999) Fundamentals and applications of pharmacogenetics for the clinical laboratory. *Ann Clin Lab Sci* 29:140-149.
- Lindpaintner K (2003) Pharmacogenetics and pharmacogenomics in drug discovery and development: an overview. *Clin Chem Lab Med* 41:398-410.
- Lopez JF, Liberzon I, Vazquez DM, Young EA, Watson SJ (1999) Serotonin 1A receptor messenger RNA regulation in the hippocampus after acute stress. *Biol Psychiatry* 45:934-937.
- Madden PA, Heath AC, Rosenthal NE, Martin NG (1996) Seasonal changes in mood and behavior. The role of genetic factors. *Arch Gen Psychiatry* 53:47-55.
- Maes M, Verkerk R, Vandoolaeghe E, Van Hunsel F, Neels H, Wauters A, Demedts P, Scharpe S (1997) Serotonin-immune interactions in major depression: lower serum tryptophan as a marker of an immune-inflammatory response. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 247:154-161.
- Maes MaM, HY.(1995) The serotonin hypothesis of major depression. In: DJ BFaK, editor. *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press. p 933-944.
- Mahieu B, Sourey D, Lipp O, Mendelbaum K, Verheyen G, De Maertelaer V, Van Broeckhoven C, Mendlewicz J (1997) No association between bipolar affective disorder and serotonin receptor (5-HT_{2A}) polymorphism. *Psychiatry Res* 70:65-69.
- Maitre D, Baumann PA, Jaekel J, al. e.(1982) 5-Ht uptake inhibitors; psychopharmacological and neurochemical criteria of selectivity. In: al He, editor. *Serotonin in biological psychiatry*. New York: Raven Press. p 229-246.
- Malison RT, Price LH, Berman R, van Dyck CH, Pelton GH, Carpenter L, Sanacora G, Owens MJ, Nemeroff CB, Rajeevan N, Baldwin RM, Seibyl JP, Innis RB, Charney DS (1998) Reduced brain serotonin transporter availability in major depression as measured by [¹²³I]-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-iodophenyl)tropane and single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry* 44:1090-1098.
- Mancama D, Kerwin RW (2003) Role of pharmacogenetics in individualising treatment with SSRIs. *CNS Drugs* 17:1-10.
- Mann JJ, Malone KM, Nielsen DA, Goldman D, Erdos J, Gelernter J (1997) Possible association of a polymorphism of the tryptophan hydroxylase gene with suicidal behavior in depressed patients. *Am J Psychiatry* 154:1451-1453.
- Mann JJ, Stanley M, McBride PA, McEwen BS (1986) Increased serotonin₂ and beta-adrenergic receptor binding in the frontal cortices of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* 43:954-959.
- Marazziti D, Macchi E, Rotondo A, Placidi GF, Cassano GB (1988) Involvement of serotonin system in bulimia. *Life Sci* 43:2123-2126.
- Maricq AV, Peterson AS, Brake AJ, Myers RM, Julius D (1991) Primary structure and functional expression of the 5HT₃ receptor, a serotonin-gated ion channel. *Science* 254:432-437.
- Marsden CA.(1991) Neurofarmacología del sistema nervioso central. In: Feighner JP, Boyer, W.F., editor. *Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina*. London: John Wiley and Sons. p 11-37.

- Martin GR, Humphrey PP (1994) Receptors for 5-hydroxytryptamine: current perspectives on classification and nomenclature. *Neuropharmacology* 33:261-273.
- Martin RM, Hilton SR, Kerry SM, Richards NM (1997) General practitioners' perceptions of the tolerability of antidepressant drugs: a comparison of selective serotonin reuptake inhibitors and tricyclic antidepressants. *Bmj* 314:646-651.
- Matthes H, Boschert U, Amlaiky N, Grailhe R, Plassat JL, Muscatelli F, Mattei MG, Hen R (1993) Mouse 5-hydroxytryptamine_{5A} and 5-hydroxytryptamine_{5B} receptors define a new family of serotonin receptors: cloning, functional expression, and chromosomal localization. *Mol Pharmacol* 43:313-319.
- Mayeux R, Stern Y, Sano M, Williams JB, Cote LJ (1988) The relationship of serotonin to depression in Parkinson's disease. *Mov Disord* 3:237-244.
- Meijer OC, Kortekaas R, Oitzl MS, de Kloet ER (1998) Acute rise in corticosterone facilitates 5-HT_{1A} receptor-mediated behavioural responses. *Eur J Pharmacol* 351:7-14.
- Mendelson SD, McEwen BS (1992) Quantitative autoradiographic analyses of the time course and reversibility of corticosterone-induced decreases in binding at 5-HT_{1A} receptors in rat forebrain. *Neuroendocrinology* 56:881-888.
- Monsma FJ, Jr., Shen Y, Ward RP, Hamblin MW, Sibley DR (1993) Cloning and expression of a novel serotonin receptor with high affinity for tricyclic psychotropic drugs. *Mol Pharmacol* 43:320-327.
- Montgomery SA (1997) Fast-onset antidepressants. *Int Clin Psychopharmacol* 12 Suppl 3:S1-5.
- Motulsky AG (1957) Drug reactions, enzymes and biochemical genetics. *JAMA* 165:835-837.
- Mueller TI, Leon AC (1996) Recovery, chronicity, and levels of psychopathology in major depression. *Psychiatr Clin North Am* 19:85-102.
- Murphy DL, Campbell I, Costa JL (1978) Current status of the indoleamine hypothesis of the affective disorders. In: Lipton MA, DiMascio A, Killam K, editors. *Psychopharmacology: a generation of progress*. New York: Raven Press. p 1235-1247.
- Murphy DL, Li Q, Engel S, Wichems C, Andrews A, Lesch KP, Uhl G (2001) Genetic perspectives on the serotonin transporter. *Brain Res Bull* 56:487-494.
- Murphy GE, Wetzel RD (1982) Family history of suicidal behavior among suicide attempters. *J Nerv Ment Dis* 170:86-90.
- Murray CJ, Lopez AD (1996) Evidence-based health policy--lessons from the Global Burden of Disease Study. *Science* 274:740-743.
- Mylecharane EJ (1991) 5-HT₂ receptor antagonists and migraine therapy. *J Neurol* 238 Suppl 1:S45-52.
- Neal DJ, Cheetman SC (1999) SSRIs: where now, where next? In: Stanford SC, editor. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs) Past, Present and Future*: Landres Company. p 187-218.
- Nemeroff CB (1996) The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis depression: New findings and new directions. *Molecular Psychiatry* 1:336-342.
- Nemeroff CB (1998) The neurobiology of depression. *Sci Am* 278:42-49.
- Nemeth A, Falus A, Szadoczky E (1989) Decreased platelet IMI-binding in panic disorder and major depression. In: *Psychiatric Today*. New York: Elsevier. p 119.
- Nishizawa S, Benkelfat C, Young SN, Leyton M, Mzengeza S, de Montigny C, Blier P, Diksic M (1997) Differences between males and females in rates of serotonin synthesis in human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:5308-5313.
- Norton RM (2001) Clinical pharmacogenomics: applications in pharmaceutical R&D. *Drug Discov Today* 6:180-185.
- O'Connor TM, O'Halloran DJ, Shanahan F (2000) The stress response and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: from molecule to melancholia. *Qjm* 93:323-333.
- Ohara K, Nagai M, Tsukamoto T, Tani K, Suzuki Y (1998) 5-HT_{2A} receptor gene promoter polymorphism--1438G/A and mood disorders. *Neuroreport* 9:1139-1141.
- Owens MJ, Nemeroff CB (1993) The Role of Corticotropin-Releasing Factor in the Pathophysiology of Affective and Anxiety Disorders - Laboratory and Clinical-Studies. *Ciba Foundation Symposia* 172:296-316.

- Owens MJ, Nemeroff CB (1994) Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin Chem* 40:288-295.
- Owens MJ, Overstreet DH, Knight DL, Rezvani AH, Ritchie JC, Bissette G, Janowsky DS, Nemeroff CB (1991) Alterations in the Hypothalamic Pituitary-Adrenal Axis in a Proposed Animal-Model of Depression with Genetic Muscarinic Supersensitivity. *Neuropsychopharmacology* 4:87-93.
- Oxley SL, Van Meter S (1996) The assessment and management of the suicidal patients. *Journal of Practical Psychiatry and Behavioural Health* 6:327-335.
- Pandey GN (1997) Altered serotonin function in suicide. Evidence from platelet and neuroendocrine studies. *Ann N Y Acad Sci* 836:182-200.
- Partonen T, Lonnqvist J (1998) Seasonal affective disorder. *Lancet* 352:1369-1374.
- Patel S, Roberts J, Moorman J, Reavill C (1995) Localization of serotonin-4 receptors in the striatonigral pathway in rat brain. *Neuroscience* 69:1159-1167.
- Pazos A, Palacios JM (1985) Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Res* 346:205-230.
- Pazos A, Probst A, Palacios JM (1987) Serotonin receptors in the human brain--IV. Autoradiographic mapping of serotonin-2 receptors. *Neuroscience* 21:123-139.
- Peralta V, Cuesta M (2002) Psicopatología y clasificación de los trastornos depresivos. *ANALES Sis San Navarra* 25:7-20.
- Peroutka SJ (1994) 5-Hydroxytryptamine receptors in vertebrates and invertebrates: why are there so many? *Neurochem Int* 25:533-536.
- Perris C (1966) A study of bipolar (manic-depressive) and unipolar recurrent depressive psychoses. I. Genetic investigation. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 194:15-44.
- Persons JB, Thase ME, Crits-Christoph P (1996) The role of psychotherapy in the treatment of depression: review of two practice guidelines. *Arch Gen Psychiatry* 53:283-290.
- Petronis KR, Samuels JF, Moscicki EK, Anthony JC (1990) An epidemiologic investigation of potential risk factors for suicide attempts. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 25:193-199.
- Piccinelli M, Wilkinson GR (2000) Gender differences in depression. *Critical Review. British Journal of Psychiatry* 177:486-492.
- Pickar D, Rubinow K (2001) Pharmacogenomics of psychiatric disorders. *Trends Pharmacol Sci* 22:75-83.
- Pincus HA, Tanielian TL, Marcus SC, Olfson M, Zarin DA, Thompson J, Magno Zito J (1998) Prescribing trends in psychotropic medications: primary care, psychiatry, and other medical specialties. *Jama* 279:526-531.
- Pine DS, Cohen P, Johnson JG, Brook JS (2002) Adolescent life events as predictors of adult depression. *J Affect Disord* 68:49-57.
- Pintor L, Gasto C, Navarro V, Torres X, Fanas L (2003) Relapse of major depression after complete and partial remission during a 2-year follow-up. *J Affect Disord* 73:237-244.
- Plassat JL, Boschert U, Amlaiky N, Hen R (1992) The mouse 5HT5 receptor reveals a remarkable heterogeneity within the 5HT1D receptor family. *Embo J* 11:4779-4786.
- Plotsky PM, Owens MJ, Nemeroff CB (1998) Psychoneuroendocrinology of depression - Hypothalamic- pituitary-adrenal axis. *Psychiatric Clinics of North America* 21:293-+.
- Poeldinger W (1984) Experiences with doxepine and trazodone in the therapy with outpatients suffering from depression. *Psychopathology* 17:30-36.
- Pokorny AD (1993) Suicide prediction revisited. *Suicide Life Threat Behav* 23:1-10.
- Pollock BG, Ferrell RE, Mulsant BH, Mazumdar S, Miller M, Sweet RA, Davis S, Kirshner MA, Houck PR, Stack JA, Reynolds CF, Kupfer DJ (2000) Allelic variation in the serotonin transporter promoter affects onset of paroxetine treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* 23:587-590.
- Potter WZ, Manji HK (1994) Catecholamines in depression: an update. *Clin Chem* 40:279-287.
- Pranzatelli MR, Eng B (1989) Chronic ACTH treatment: influence on 5-HT2 receptors and behavioral supersensitivity induced by 5,7-dihydroxytryptamine lesions. *Peptides* 10:5-8.

- Prazos A, Hoyer D, Dietl MM. (1988) Autoradiography of serotonin receptors. In: Osborne S, Haman M, editors. *Neuronal serotonin*. Chichester: John Wiley. p 507-543.
- Preuss UW, Koller G, Bahlmann M, Soyka M, Bondy B (2000) No association between suicidal behaviour and 5-HT_{2A}-T102C polymorphism in alcohol dependents. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* 96:877-878.
- Puri BK, Tyrer PJ. (1992) Neuroanatomy. In: *Sciences basic to psychiatry*. New York: Churchill Livingstone. p 1-24.
- Quintana J (1992) Platelet serotonin and plasma tryptophan decreases in endogenous depression. Clinical, therapeutic, and biological correlations. *J Affect Disord* 24:55-62.
- Quitkin FM, Liebowitz MR, Stewart JW, McGrath PJ, Harrison W, Rabkin JG, Markowitz J, Davies SO (1984) I-Deprenyl in atypical depressives. *Arch Gen Psychiatry* 41:777-781.
- Quitkin FM, Rabkin JG, Gerald J, Davis JM, Klein DF (2000) Validity of clinical trials of antidepressants. *Am J Psychiatry* 157:327-337.
- Raap DK, Garcia F, Muma NA, Wolf WA, Battaglia G, van de Kar LD (1999) Sustained desensitization of hypothalamic 5-Hydroxytryptamine_{1A} receptors after discontinuation of fluoxetine: inhibited neuroendocrine responses to 8-hydroxy-2-(Dipropylamino)Tetraol in the absence of changes in Gi/o/z proteins. *J Pharmacol Exp Ther* 288:561-567.
- Ramamoorthy S, Bauman AL, Moore KR, Han H, Yang-Feng T, Chang AS, Ganapathy V, Blakely RD (1993) Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:2542-2546.
- Raurich A, Mengod G, Artigas F, Cortes R (1999) Displacement of the binding of 5-HT_{1A} receptor ligands to pre- and postsynaptic receptors by (-)-pindolol. A comparative study in rodent, primate and human brain. *Synapse* 34:68-76.
- Rausch JL, Johnson ME, Fei YJ, Li JQ, Shendarkar N, Hobby HM, Ganapathy V, Leibach FH (2002) Initial conditions of serotonin transporter kinetics and genotype: influence on SSRI treatment trial outcome. *Biol Psychiatry* 51:723-732.
- Rees S, den Daas I, Foord S, Goodson S, Bull D, Kilpatrick G, Lee M (1994) Cloning and characterisation of the human 5-HT_{5A} serotonin receptor. *FEBS Lett* 355:242-246.
- Reul J, Holsboer F (2002) Corticotropin-releasing factor receptors 1 and 2 in anxiety and depression. *Current Opinion in Pharmacology* 2:23-33.
- Rey JM, Peng R, Morales-Blanchuez C, Widyawati I, Peralta G (2000) Rating the quality of the family environment in different cultures. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry* 39:1168-1174.
- Ribas G (2001) SNP Harvesting and Validation. *Genome News* 24.
- Risch N, Merikangas K (1996) The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* 273:1516-1517.
- Risch SC, Nemeroff CB (1992) Neurochemical alterations of serotonergic neuronal systems in depression. *J Clin Psychiatry* 53 Suppl:3-7.
- Rogers JF, Nafziger AN, Bertino JS, Jr. (2002) Pharmacogenetics affects dosing, efficacy, and toxicity of cytochrome P450-metabolized drugs. *Am J Med* 113:746-750.
- Rosenblum LA, Smith ELP, Altemus M, Scharf BA, Owens MJ, Nemeroff CB, Gorman JM, Coplan JD (2002) Differing concentrations of corticotropin-releasing factor and oxytocin in the cerebrospinal fluid of bonnet and pigtail macaques. *Psychoneuroendocrinology* 27:651-660.
- Rosenthal NE, Mazzanti CM, Barnett RL, Hardin TA, Turner EH, Lam GK, Ozaki N, Goldman D (1998) Role of serotonin transporter promoter repeat length polymorphism (5-HTTLPR) in seasonality and seasonal affective disorder. *Mol Psychiatry* 3:175-177.
- Roses AD (2001) Pharmacogenetics. *Hum Mol Genet* 10:2261-2267.
- Roy A, Nielsen D, Rylander G, Sarchiapone M, Segal N (1999) Genetics of suicide in depression. *J Clin Psychiatry* 60 Suppl 2:12-17; discussion 18-20, 113-116.

- Ruat M, Traffort E, Leurs R, Tardivel-Lacombe J, Diaz J, Arrang JM, Schwartz JC (1993) Molecular cloning, characterization, and localization of a high-affinity serotonin receptor (5-HT7) activating cAMP formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:8547-8551.
- Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, Sherry S, Mullikin JC, Mortimore BJ, Willey DL, Hunt SE, Cole CG, Coggill PC, Rice CM, Ning Z, Rogers J, Bentley DR, Kwok PY, Mardis ER, Yeh RT, Schultz B, Cook L, Davenport R, Dante M, Fulton L, Hillier L, Waterston RH, McPherson JD, Gilman B, Schaffner S, Van Etten WJ, Reich D, Higgins J, Daly MJ, Blumenstiel B, Baldwin J, Stange-Thomann N, Zody MC, Linton L, Lander ES, Altshuler D (2001) A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 409:928-933.
- Sackeim HA, Freeman J, McElhiney M, Coleman E, Prudic J, Devanand DP (1992) Effects of major depression on estimates of intelligence. *J Clin Exp Neuropsychol* 14:268-288.
- Sackeim HA, Prudic J, Devanand DP, Kiersky JE, Fitzsimons L, Moody BJ, McElhiney MC, Coleman EA, Settembrino JM (1993) Effects of stimulus intensity and electrode placement on the efficacy and cognitive effects of electroconvulsive therapy. *N Engl J Med* 328:839-846.
- Sackeim HA, Prudic J, Devanand DP, Nobler MS, Lisanby SH, Peyser S, Fitzsimons L, Moody BJ, Clark J (2000) A prospective, randomized, double-blind comparison of bilateral and right unilateral electroconvulsive therapy at different stimulus intensities. *Arch Gen Psychiatry* 57:425-434.
- Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, Rabiner EA, Messa C, Meyer J, Gunn RN, Grasby PM, Cowen PJ (2000) Brain serotonin1A receptor binding measured by positron emission tomography with [¹¹C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry* 57:174-180.
- Schanen NC, Scherer SW, Tsui LC, Francke U (1996) Assignment of the 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 5A gene (HTR5A) to human chromosome band 7q36.1. *Cytogenet Cell Genet* 72:187-188.
- Schildkraut JJ (1965) The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* 122:509-522.
- Schlicker E, Fink K, Gothert M, Hoyer D, Molderings G, Roschke I, Schoeffter P (1989) The pharmacological properties of the presynaptic serotonin autoreceptor in the pig brain cortex conform to the 5-HT1D receptor subtype. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 340:45-51.
- Scott J (1988) Chronic depression. *Br J Psychiatry* 153:287-297.
- Serretti A, Lilli R, Lorenzi C, Lattuada E, Smeraldi E (2000) Serotonin-2C and serotonin-1A receptor genes are not associated with psychotic symptomatology of mood disorders. *Am J Med Genet* 96:161-166.
- Serretti A, Lilli R, Lorenzi C, Smeraldi E (1999) No association between serotonin-2A receptor gene polymorphism and psychotic symptomatology of mood disorders. *Psychiatry Res* 86:203-209.
- Serretti A, Lilli R, Smeraldi E (2002) Pharmacogenetics in affective disorders. *Eur J Pharmacol* 438:117-128.
- Serretti A, Zanardi R, Cusin C, Rossini D, Lorenzi C, Smeraldi E (2001a) Tryptophan hydroxylase gene associated with paroxetine antidepressant activity. *Eur Neuropsychopharmacol* 11:375-380.
- Serretti A, Zanardi R, Rossini D, Cusin C, Lilli R, Smeraldi E (2001b) Influence of tryptophan hydroxylase and serotonin transporter genes on fluvoxamine antidepressant activity. *Mol Psychiatry* 6:586-592.
- Shaw DM, Tidmarsh SF, Johnson AL, Michalakeas AC, Riley GJ, Blazek R, Francis AF (1978) Multicompartmental analysis of amino acids: II. Tryptophan in affective disorder. *Psychol Med* 8:487-494.
- Shen Y, Monsma FJ, Jr., Metcalf MA, Jose PA, Hamblin MW, Sibley DR (1993) Molecular cloning and expression of a 5-hydroxytryptamine7 serotonin receptor subtype. *J Biol Chem* 268:18200-18204.

- Shimron-Abarbanell D, Erdmann J, Vogt IR, Bryant SP, Spurr NK, Knapp M, Propping P, Nothen MM (1997) Human 5-HT_{5A} receptor gene: systematic screening for DNA sequence variation and linkage mapping on chromosome 7q34-q36 using a polymorphism in the 5' untranslated region. *Biochem Biophys Res Commun* 233:6-9.
- Shopsin B, Friedman E, Gershon S (1976) Parachlorophenylalanine reversal of tranylcypromine effects in depressed patients. *Arch Gen Psychiatry* 33:811-819.
- Shopsin B, Gershon S, Goldstein M, Friedman E, Wilk S (1975) Use of synthesis inhibitors in defining a role for biogenic amines during imipramine treatment in depressed patients. *Psychopharmacol Commun* 1:239-249.
- Siever LJ, Davis KL (1985) Overview: toward a dysregulation hypothesis of depression. *Am J Psychiatry* 142:1017-1031.
- Silverstein B (1999) Gender difference in the prevalence of clinical depression: the role played by depression associated with somatic symptoms. *Am J Psychiatry* 156:480-482.
- Simes RJ (1986) An improved Bonferroni procedure for multiple test of significance. *Biometrika* 73:751-754.
- Simoni L, Calafell F, Pettener D, Bertranpetit J, Barbujani G (2000) Geographic patterns of mtDNA diversity in Europe. *Am J Hum Genet* 66:262-278.
- Sleight AJ, Boess FG, Bos M, Levet-Trafit B, Riemer C, Bourson A (1998) Characterization of Ro 04-6790 and Ro 63-0563: potent and selective antagonists at human and rat 5-HT₆ receptors. *Br J Pharmacol* 124:556-562.
- Smeraldi E, Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Perez J, Catalano M (1998) Polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene and antidepressant efficacy of fluvoxamine. *Mol Psychiatry* 3:508-511.
- Smith AL, Weissman, M.M. (1992) Epidemiology. In: Paykel ES, editor. *Handbook of Affective Disorders*. Edinburgh: Churchill Livingstone. p 111-129.
- Sparkes RS, Lan N, Klisak I, Mohandas T, Diep A, Kojis T, Heinzmann C, Shih JC (1991) Assignment of a serotonin 5HT-2 receptor gene (HTR2) to human chromosome 13q14-q21 and mouse chromosome 14. *Genomics* 9:461-465.
- Spigset O, Martensson B (1999) Fortnightly review: drug treatment of depression. *Bmj* 318:1188-1191.
- Spitzer RL WJ, Gibbon M, First MEB. (1990) *Structured clinical interview for DSM-III-R*. Washington DC: American Psychiatric Press.
- Sprouse JS, Aghajanian GK (1986) (-)-Propranolol blocks the inhibition of serotonergic dorsal raphe cell firing by 5-HT_{1A} selective agonists. *Eur J Pharmacol* 128:295-298.
- Sprouse JS, Aghajanian GK (1987) Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists. *Synapse* 1:3-9.
- Spurlock G, Heils A, Holmans P, Williams J, D'Souza UM, Cardno A, Murphy KC, Jones L, Buckland PR, McGuffin P, Lesch KP, Owen MJ (1998) A family based association study of T102C polymorphism in 5HT_{2A} and schizophrenia plus identification of new polymorphisms in the promoter. *Mol Psychiatry* 3:42-49.
- Stahl S, Gastpar M, Keppel Hesselink JM, Traber J. (1992) *Serotonin 1a Receptors in Depression and Anxiety*. New York: Raven Press.
- Stahl SM (1998) Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. *J Affect Disord* 51:215-235.
- Staner L, Kempenaers C, Simonnet MP, Fransolet L, Mendlewicz J (1992) 5-HT₂ receptor antagonism and slow-wave sleep in major depression. *Acta Psychiatr Scand* 86:133-137.
- Stanley M, Mann JJ (1983) Increased serotonin-2 binding sites in frontal cortex of suicide victims. *Lancet* 1:214-216.
- Statham DJ, Heath AC, Madden PA, Bucholz KK, Bierut L, Dinwiddie SH, Slutske WS, Dunne MP, Martin NG (1998) Suicidal behaviour: an epidemiological and genetic study. *Psychol Med* 28:839-855.

- Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS (2000) Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry* 157:1552-1562.
- Sussman LK, Robins LN, Earls F (1987) Treatment-seeking for depression by black and white Americans. *Soc Sci Med* 24:187-196.
- Syvalahti EK (1994) Biological aspects of depression. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 377:11-15.
- Targum SD, Marshall LE (1989) Fenfluramine provocation of anxiety in patients with panic disorder. *Psychiatry Res* 28:295-306.
- Terman M (1988) On the question of mechanism in phototherapy for seasonal affective disorder: considerations of clinical efficacy and epidemiology. *J Biol Rhythms* 3:155-172.
- Thase ME (1992) Long-term treatments of recurrent depressive disorders. *J Clin Psychiatry* 53 Suppl:32-44.
- Thase ME, Greenhouse JB, Frank E, Reynolds CF, 3rd, Pilonis PA, Hurley K, Grochocinski V, Kupfer DJ (1997) Treatment of major depression with psychotherapy or psychotherapy-pharmacotherapy combinations. *Arch Gen Psychiatry* 54:1009-1015.
- Thomas DR, Nelson DR, Johnson AM (1987) Biochemical Effects of the Antidepressant Paroxetine, a Specific 5-Hydroxytryptamine Uptake Inhibitor. *Psychopharmacology* 93:193-200.
- Thompson C (2002) Onset of action of antidepressants: results of different analyses. *Hum Psychopharmacol* 17 Suppl 1:S27-32.
- Thompson J, Rankin H, Ashcroft GW, Yates CM, McQueen JK, Cummings SW (1982) The treatment of depression in general practice: a comparison of L-tryptophan, amitriptyline, and a combination of L-tryptophan and amitriptyline with placebo. *Psychological Medicine* 12:741-751.
- Thomson G, Esposito MS (1999) The genetics of complex diseases. *Trends Cell Biol* 9:M17-20.
- Travé Rodríguez AL, Reneses Sacristan A.(2002) Manejo de los fármacos en el tratamiento de la depresión. In: Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud: Sistema Nacional de Salud. p 1-8.
- Tsutsumi M, Sanders-Bush E (1990) 5-HT-induced transferrin production by choroid plexus epithelial cells in culture: role of 5-HT_{1c} receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 254:253-257.
- Uphouse L (1997) Multiple serotonin receptors: too many, not enough, or just the right number? *Neurosci Biobehav Rev* 21:679-698.
- Vallejo J.(1998) Introducción a la psicopatología y la psiquiatría, 4ª edición ed: Masson.
- Vallejo J.(2000) Trastornos depresivos. In: Vallejo J, editor. Introducción a la Psicopatología y la Psiquiatría. Barcelona: Masson. p 507-540.
- Vallejo J, Gasto C, Catalan R, Bulbena A, Menchon JM (1991) Predictors of antidepressant treatment outcome in melancholia: psychosocial, clinical and biological indicators. *J Affect Disord* 21:151-162.
- van Praag HM (1992) About the centrality of mood lowering in mood disorders. Plenary Lecture ECNP Congress, Monte Carlo, October 1991. *Eur Neuropsychopharmacol* 2:393-404.
- VanderMaelen CP, Matheson GK, Wilderman RC, Patterson LA (1986) Inhibition of serotonergic dorsal raphe neurons by systemic and iontophoretic administration of buspirone, a non-benzodiazepine anxiolytic drug. *Eur J Pharmacol* 129:123-130.
- Vogel F (1959) Moderne probleme der humangenetik. *Ergeb Inn Med Kinderheild* 12:52-125.
- Warren JT, Peacock ML, Rodriguez LC, Fink JK (1993) An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR2A): detection by DGGE and RFLP analysis. *Human Molecular Genetics* 2:338.
- Weil-Malherve H (1967) The biochemistry of the functional psychoses. *Adv. Enzymol.* 29:479-553.

- Weiss JM, Stout JC, Aaron MF, Quan N, Owens MJ, Butler PD, Nemeroff CB (1994) Depression and Anxiety - Role of the Locus-Coeruleus and Corticotropin-Releasing Factor. *Brain Research Bulletin* 35:561-572.
- Weiss M, Gaston I, Propst A, Wisebord S, Zicherman V (1997) The role of alliance in the pharmacological treatment of depression. *Journal of Clinical Psychiatry* 58:196-204.
- Weissman MM, Bland RC, Canino GJ, Faravelli C, Greenwald S, Hwu HG, Joyce PR, Karam EG, Lee CK, Lellouch J, Lepine JP, Newman SC, Rubio-Stipec M, Wells JE, Wickramaratne PJ, Wittchen H, Yeh EK (1996) Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *Jama* 276:293-299.
- Weissman MM, Olfson M (1995) Depression in women: implications for health care research. *Science* 269:799-801.
- Wilkinson GR, Guegerich FP, Branch RA.(1992) Genetic polymorphisms of S-mephenytoin hydroxylation. In: Kalow W, editor. *Pharmacogenetics of Drug Metabolism*. New York: Pergamon Press. p 657-685.
- Willeit M, Praschak-Rieder N, Neumeister A, Pirker W, Asenbaum S, Vitouch O, Tauscher J, Hilger E, Stastny J, Brucke T, Kasper S (2000) [123I]-beta-CIT SPECT imaging shows reduced brain serotonin transporter availability in drug-free depressed patients with seasonal affective disorder. *Biol Psychiatry* 47:482-489.
- Wilson MA, Molliver ME (1991) The organization of serotonergic projections to cerebral cortex in primates: regional distribution of axon terminals. *Neuroscience* 44:537-553.
- Winokur A, Lindberg ND, Lucki I, Phillips J, Amsterdam JD (1986) Hormonal and behavioral effects associated with intravenous L-tryptophan administration. *Psychopharmacology (Berl)* 88:213-219.
- Winokur G (1997) All roads lead to depression: clinically homogeneous, etiologically heterogeneous. *J Affect Disord* 45:97-108.
- Winokur G, Clayton PJ, Reich T.(1969) Manic-depressive illness. Sant Louis: CV Mosby.
- Winokur G, Morrison J (1973) The Iowa 500: follow-up of 225 depressives. *Br J Psychiatry* 123:543-548.
- Wolley DW.(1961) The biochemical basis of psychosis. New York: John Wiley and Sons, Inc.
- Wong DT, Bymaster FP, Horng JS, Molloy BB (1975) A new selective inhibitor for uptake of serotonin into synaptosomes of rat brain: 3-(p-trifluoromethoxy)-N-methyl-3-phenyl propylamine. *J Pharmacol Exp Ther* 193:804-811.
- Wood PL, Suranyi-Cadotte BE, Nair NP, LaFaille F, Schwartz G (1983) Lack of association between [3H]mipramine binding sites and uptake of serotonin in control, depressed and schizophrenic patients. *Neuropharmacology* 22:1211-1214.
- Wu S, Comings DE (1999) A common C-1018G polymorphism in the human 5-HT1A receptor gene. *Psychiatr Genet* 9:105-106.
- Yates M, Leake A, Candy JM, Fairbairn AF, McKeith IG, Ferrier IN (1990) 5HT2 receptor changes in major depression. *Biol Psychiatry* 27:489-496.
- Yatham LN, Liddle PF, Shiah IS, Scarrow G, Lam RW, Adam MJ, Zis AP, Ruth TJ (2000) Brain serotonin2 receptors in major depression: a positron emission tomography study. *Arch Gen Psychiatry* 57:850-858.
- Yau JL, Noble J, Widdowson J, Seckl JR (1997) Impact of adrenalectomy on 5-HT6 and 5-HT7 receptor gene expression in the rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res* 45:182-186.
- Young MA, Fogg LF, Scheftner WA, Fawcett JA (1994) Interactions of risk factors in predicting suicide. *Am J Psychiatry* 151:434-435.
- Zanardi R, Benedetti F, Di Bella D, Catalano M, Smeraldi E (2000) Efficacy of paroxetine in depression is influenced by a functional polymorphism within the promoter of the serotonin transporter gene. *J Clin Psychopharmacol* 20:105-107.
- Zemlan FP, Schwab EF (1991) Characterization of a novel serotonin receptor subtype (5-HT1S) in rat CNS: interaction with a GTP binding protein. *J Neurochem* 57:2092-2099.
- Zifa E, Fillion G (1992) 5-Hydroxytryptamine receptors. *Pharmacol Rev* 44:401-458.

- Zill P, Baghai TC, Zwanzger P, Schule C, Minov C, Riedel M, Neumeier K, Rupprecht R, Bondy B (2000) Evidence for an association between a G-protein beta3-gene variant with depression and response to antidepressant treatment. *Neuroreport* 11:1893-1897.
- Zornberg GL, Pope HG, Jr. (1993) Treatment of depression in bipolar disorder: new directions for research. *J Clin Psychopharmacol* 13:397-408.

CURRICULUM VITAE BREVE

DATOS ACADÉMICOS

PRIMER Y SEGUNDO CICLO

Título: Licenciada en Ciencias Biológicas
Centro: Facultat de Biologia
Organismo: Universitat de Barcelona
Fecha: Septiembre de 1997

TERCER CICLO

- Adscrita al programa de Doctorado: "*Biologia Animal II. Antropologia Biològica*" (Bienio 1997-1999), bajo la dirección de la Dra. Lourdes Fañanás en la línea de Investigación "Identificación de factores de riesgo genético en la Depresión"
- Obtención de la Suficiencia Investigadora con fecha del 26 de enero de 2000

MÀSTER EXPERIMENTAL

Título: Análisis de los genes de los receptores de serotonina 5-HT_{2A} y 5-HT_{5A} en pacientes con Trastorno Depresivo Mayor: estudio de asociación genética
Centro: Facultat de Biologia
Organismo: Universitat de Barcelona
Fecha: Febrero 2001
Calificación: Apto (Máxima calificación)

CURSO DE POSTGRADO

Título: Genòmica, proteòmica i bioinformàtica.
Centro: Facultat de Químiques.
Organismo: Universitat de Barcelona
Fecha: Febrero 2002

ACTIVIDAD INVESTIGADORA DESARROLLADA

(Departament de Biologia Animal. Unitat d'Antropologia)

1. Colaboración con la Unitat d'Antropologia del Departament de Biologia Animal como estudiante de segundo ciclo desde 1995.
2. Estudiante pre-doctoral desde septiembre de 1997 hasta el 31 de septiembre de 2000 vinculada a proyectos d'investigació subvencionados por entidades oficiales.
 - Genes implicados en la neurotransmisión; estimación de riesgos genéticos combinados en patología mental y estudio de genómica comparada en primates. Proyecto: PM98-0184
 - Marcadores genéticos individuales como predictores de la respuesta al tratamiento farmacológico en la depresión mayor: análisis genético combinado de los polimorfismos CYP2D6 y CYP2C19 y SERT. Proyecto: FIS 00-0613

3. Becaria de la Universitat de Barcelona según el Programa UB de Beques de Formació d'Investigadors desde el 1 de octubre de 2000 hasta la actualidad.

ARTÍCULOS PUBLICADOS:

Arias, B; Gutiérrez, B.; Pintor, L.; Gastó, C.; Rosa, A.; Fañanás, L. 2001. Variability in 5HT2A serotonin receptor gene is associated with seasonal pattern in major depression. *Molecular Psychiatry*, 6 (2): 239-242

Arias, B; Collier, DA; Gutiérrez, B; Pintor, L; Gastó, C; Fañanás, L. 2001. Genetic variation in the 5-HT_{5A} receptor gene and vulnerability to affective disorders: an association study. *Neuroscience letters* 303 (2):111-114

Gutiérrez, B; **Arias, B;** Papiol, S; Rosa, A; Fañanás, L. 2001. Association study between novel promoter variants at the 5-HT_{2C} receptor gene and human patients with bipolar affective disorder. *Neuroscience letters* 309:135-137

Arias, B; Gastó, C; Catalán, R; Gutiérrez, B; Pintor, L; Fañanás, L. 2001. The 5-HT_{2A} receptor gene 102T/C polymorphism is associated with suicidal behaviour in depressed patients. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Section)* 105:801-804.

Rosa, A; Gutiérrez, B; Guerra, A; **Arias, B;** Fañanás, L. 2002. Dermatoglyphics and abnormal palmar flexion creases as markers of early prenatal stress in children with idiopathic mental retardation. *Journal of Intellectual Disability Research* 45 (5): 416-423

Arias, B; Rosa, A; Fañanás, L. 2002. Human Genetic Variation and Mental Disorders. *Neurotoxicity Research* 4 (5-6):523-530.

Arias, B; Arranz, MJ; Gastó, C; Catalán, R; Pintor, L; Gutiérrez, B; Kerwin RW, Fañanás, L. 2002. Analysis of structural polymorphisms and C-1018G promoter variant of the 5-HT_{1A} receptor gene as putative risk factors in Major Depression. *Molecular Psychiatry* 7 (9): 930-932

Rosa, A; Fañanás, L; Van Os, J; Ribchester, T; Davies, N; **Arias, B;** McDonald, A; Murray, R. 2002. Further evidence that congenital dermatoglyphic abnormalities are associated with psychosis : a twin study. *Schizophrenia Bulletin* 28 (4):697-701.

Arias, B; Catalán, R; Gastó, C; Gutiérrez, B; Fañanás, L. 2003. 5-HTTLPR polymorphism of the serotonin transporter gene predicts non-remission in major depression patients treated with citalopram in twelve weeks follow up study. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 23 (6)

Arias, B; Catalán, R; Gastó, C; Gutiérrez, B; Fañanás, L. Evidences for a combined genetic effect of the Serotonin Transporter and 5-HT_{1A} Receptor genes in the clinical outcome of major depressive patients treated with citalopram. *Journal of Psychopharmacology* (en consideración editorial).

ARTÍCULOS INVITADOS

Arias, B. 2002. Aportaciones de la genética al estudio de la depresión mayor. *Páginas de Psiquiatría*.

CAPÍTULOS DE LIBRO

Fañanás, L y **Arias, B**. 2002. Genética de la depresión. En: Depresión: Estado actual. Ed. F. Pallardó. Fundación Valenciana de Estudios Avanzados, pp. 63-104.

RESÚMENES DE CONGRESOS EN REVISTAS CIENTÍFICAS

Sixth Congress on Psychiatric Genetics. Bonn, Octubre 6-10, 1998.

Gutiérrez, B; Van Os, J; Rosa, A; **Arias, B**; Fañanás, L. Familial morbid risk for severe psychiatric disorders increases in bipolar patients with dosage of SERT alleles 484 and Stin2.10. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics Section)*, 81(6) : 506-507.

Arias, B; Gutiérrez, B; Gastó, C; Pintor, L; Rosa, A; Blanch, J; Fañanás, L. Haptoglobin genetic variation and risk for major depression with melancholia. *American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics Section)*, 81(6) : 546.

III Congreso Nacional de Psiquiatría. Platja d'Aro (Girona), Octubre, 1998.

Gutiérrez, B; **Arias, B**; Pintor, L; Gastó, L; Rosa, A; Fañanás, L. Análisis de la variabilidad del gen de la triptófano hidroxilasa (TPH) y riesgo para la depresión mayor. *Actas Luso-Españolas de Neurología, Psiquiatría y Ciencias afines*, 26 :63-64.

Gutiérrez, B; Van Os, J; Rosa, A; **Arias, B**; Fañanás, L. Análisis numérico del riesgo combinado de los genes 5-HT2A, 5-HT2C, COMT y SERT y riesgo para trastorno bipolar. *Actas Luso-Españolas de Neurología, Psiquiatría y Ciencias afines*, 26 :24.

Rosa, A; Guerra, A; Gutiérrez, B; **Arias, B**; Fañanás, L. Estudio de las alteraciones dermatoglíficas en una población infantil afectada por retraso mental de origen no genético. *Actas Luso-Españolas de Neurología, Psiquiatría y Ciencias afines*, 26 :20.

Arias, B; Gutiérrez, B; Gastó, C; Pintor, L; Rosa, A; Blanch, J; Fañanás, L. Variabilidad genética de la haptoglobina y riesgo para la depresión mayor con melancolía. *Actas Luso-Españolas de Neurología, Psiquiatría y Ciencias afines*, 26 :23.

IV Congreso Nacional de Psiquiatría. Oviedo, Octubre, 1999.

Rosa, A; **Arias, B**; Gastó, C; Pintor, L; Gutiérrez, B; Catalán, R; Imaz, M; Guillamat, R; Vallès, V; Fañanás, L. Análisis del gen de la Tirosin Hidroxilasa en pacientes con trastorno bipolar y en pacientes con depresión mayor: estudio de asociación genético. *Psiquiatría Biológica*. Vol. 6 (Sup. 2): pp. 10.

Arias, B; Pintor, L; Gutiérrez, B; Gastó, C; Rosa, A; Catalán, R; Imaz, M; Martín, B; Fañanás, L. Variabilidad genética del receptor 5-HT2A y riesgo para la depresión mayor con estacionalidad. *Psiquiatría Biológica*. Vol. 6 (Sup. 2): pp. 10.

Gutiérrez, B; **Arias, B**; Rosa, A; Pintor, L; Gastó, C; Fañanás, L. El gen del transportador de serotonina: ¿Un verdadero gen candidato en trastornos afectivos?. *Psiquiatría Biológica*. Vol. 6 (Sup. 2): pp. 11.
10th Winter Workshop in Schizophrenia. Davos (Suiza), Febrero, 2000.

A. Rosa; Fañanás, L; Van Os, J; Ribchester, T; Davis, N; **Arias, B**; McDonald, A; Murray, R. New evidence of an excess of palmar flexion creases and dermatoglyphic abnormalities in psychosis: a twin study. *Schizophrenia Research*. Vol. 41(1): 102.

Eighth World Congress on Psychiatric Genetics. Versailles (Francia), Agosto, 2000.

Arias, B; Collier, D; Gutiérrez, B; Pintor, L ; Gastó, C; Martín, B; Fañanas, L. Genetic variation of the 5-HT_{2A} receptor gene does not increase the risk for major affective disorders. *American Journal of Medical Genetics*. Vol. 96 (4): 497

Arias, B; Collier, D; Pintor, L; Gutiérrez, B; Gastó, C; Catalán, R; Fañanas, L. Genetic variation of the 5-HT_{2C} receptor gene and risk for major depression: an association study. *American Journal of Medical Genetics*. Vol. 96 (4): 497.

Arias, B; Gutiérrez, B; Pintor, L ; Gastó, C; Fañanas, L. Variability in the 5-HT_{2A} receptor gene is associated with seasonal pattern in major depression. *American Journal of Medical Genetics*. Vol. 96 (4): 497

Arias, B; Gastó, C; Catalán, R; Gutiérrez, B; Imaz, M; Pintor, L; Martín, B; Fañanas, L. Variation in the serotonin transporter gene and clinical response to citalopram in major depression. *American Journal of Medical Genetics*. Vol. 96 (4): 536

Rosa, A; **Arias, B;** Gutiérrez, B; Pintor, L ; Gastó, C; Papiol, S; Martín, B; Fañanas, L. Genetic variation of genes involved in the dopaminergic neurotransmission (COMT and TH) and risk for major depression. *American Journal of Medical Genetics* Vol. 96 (4): 500.

10TH Congress of the Association of European Psychiatrist. Praga (Czech Republic), Octubre 2000.

Rosa, A; Fañanas, L; McDonald, A; Bracha, H.S; **Arias, B;** Torrey, E.F; Murray, R.M.; Van Os, J. Recent dermatoglyphic studies in twin samples: further evidences for an environmental risk factor in schizophrenia. *European Psychiatry* Vol. 15 (Suppl 2): 305s.

Papiol, S; Gutiérrez, B; **Arias, B;** Rosa, A; Martín, B; Fañanas, L. Distribution of serotonin transporter gene variants in human populations: a possible tool for understanding some aspects in psychiatric epidemiology. *European Psychiatry* Vol. 15 (Suppl 2): 359s.

7th World Congress of Biological Psychiatry. Berlín (Alemania). Julio, 2001.

Arias, B; Catalán, R; Gastó, C; Imaz, M; Gutiérrez, B; Pintor, L; Fañanas, L. Genetic variability in the promoter region of the serotonin transporter gene is associated with clinical remission of major depression after long term treatment with citalopram. *The World Journal of Biological Psychiatry* Vol. 2: 9s.

Papiol, S; Gutiérrez, B; **Arias, B;** Collier, D; Fañanas, L. Bipolar affective disorder is not associated with genetic variability in the 5-HT_{2C} receptor. *The World Journal of Biological Psychiatry* Vol. 2, 215s.

Tenth World Congress on Psychiatric Genetics. Bruselas (Bélgica). Octubre, 2002.

Gutiérrez, B; **Arias, B;** Gastó, C; Catalán, R; Papiol, S; Pintor, L; Fañanas, L. Association analysis between a functional polymorphism in the monoamine oxidase a gene promoter and severe mood disorders. *American journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* Vol. 114 (7): P121.

Papiol, S; Martín, B; Rosa, A; Gutiérrez, B; **Arias, B;** Salgado, P; Catalán, R; Gastó, C; Fañanas, L. The haplotypic combination allele 1 (IL-1B)/ allele 2 (IL-1RN) at the interleukin-1 locus is associated with risk to schizophrenia and bipolar disorder. *American journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* Vol. 114 (7): 734.

Eleventh World Congress on Psychiatric Genetics. Québec (Canadá). Octubre, 2003.

Gutiérrez, B; Fatjó-Vilas, M; Rosa, A; **Arias, B**; Catalán, R; Salgado, P; Fañanás, L. Identification of two high risk haplotypes for schizophrenia and bipolar disorder in the synaptic vesicle monoamine transporter gene (SVMT). *American journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* Vol. 122B (1): 35.

Arias, B; Catalán, R; Gastó, C; Gutiérrez, B; Fañanás, L. Evidences for a combined genetic effect of the serotonin transporter and 5-HT1A receptor genes in the clinical outcome and remission status of major depressive patients treated with citalopram. *American journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* Vol. 122B (1): 127.

Fató-Vilas, M; **Arias, B**; Rosa, A; Miret, S; Domènech, C; Arrufat, F; Fañanás, L. Association analysis of serotonin HTR2A and dopamine DRD2 genes and schizophrenia. *American journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* Vol. 122B (1): 143.

Papiol, S; **Arias, B**; Guitart, M; Barrantes-Vidal, N; Salgado, P; Catalán, R; Fañanás L. A possible role of polymorphisms at the tumor suppressor gene P53 (TP53) in contributing to the risk for schizophrenia and associated neurocognitive deficits. *American journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Genetics)* Vol. 122B (1): 151.

BECAS Y BOLSAS DE ESTUDIO

- Bolsa de Estudios "Abelard Fàbrega" por el trabajo titulado "Anàlisi de la variabilitat en gens implicats en la neurotransmissió serotoninèrgica i risc combinat i relació amb la prevalença psiquiàtrica familiar". Otorgado el 22 de marzo de 1999 por el Institut d'Estudis Catalans. (Durada: 1 any)
- Beca para la Investigación y ampliación de estudios en el extranjero (Beques per la Recerca fora de Catalunya BE99) Convocatoria 1999 (DOGC núm. 2866 de 13.4.1999). (Durada: 3 meses).
Concedido por el Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació de la Generalitat de Catalunya.
- Beca de asistencia al "X Curso de Receptores para Neurotransmisores".
Concedida por los organizadores del curso Dr. J. García Sevilla i Dr. Angel Pazos. Abril, 2000.
- Beca de asistencia al "Eighth World Congress on Psychiatric Genetics". Agosto, 2000
Concedida por la ISPG (International Society of Psychiatric Genetics)
- Beca de asistencia al "7th World Congress of Biological Psychiatry". Julio, 2001
Concedida por World Federation of Societies of Biological Psychiatry
- Beca para estancias cortas en el extranjero correspondientes a las Beques de Formació de Personal Investigador, Programa Propi de la Universitat de Barcelona. Durada: 3 meses (Agosto-Noviembre), 2001.
- Beca para estancias cortas en el extranjero correspondientes a las Beques de Formació de Personal Investigador, Programa Propi de la Universitat de Barcelona. Durada: 3 meses (Julio-Septiembre), 2002.

ESTANCIAS EN EL EXTRANJERO

- Estancia del 19 de junio al 9 de octubre de 1999 al Departament of Psychological Medicine, Laboratory of Molecular Genetics, Institute of Psychiatry de Londres (UK) bajo la supervisión del Dr. David Collier. Financiada por la beca BE-99 para la Investigación y ampliación de estudios en el extranjero.

- Estancia del 26 de agosto al 20 de noviembre de 2001 al Departament of Psychological Medicine, Clinical Psychopharmacology Section, Institute of Psychiatry de Londres (UK) bajo la supervisión de la Dra. Maria J Arranz. Financiada por los Ajuts per a estades curtes a l'estranger (Beques de Formació d'Investigadors, Programa Propi UB)
- Estancia del 15 de julio al 15 de septiembre de 2002 al Departament of Psychological Medicine, Clinical Psychopharmacology Section, Institute of Psychiatry de Londres (UK) bajo la supervisión de la Dra. Maria J Arranz. Financiada por los Ajuts per a estades curtes a l'estranger (Beques de Formació d'Investigadors, Programa Propi UB)

OTROS MÉRITOS

- Miembro de los Grupos de Excelencia Investigadora
 - Grup de Recerca Consolidat SGR 00009 - 1998.
 - Grup de Recerca Consolidat SGR-00093 - 2000
 - Grup de Recerca Consolidat SGR-00285 - 2001
 - Centre Especial de Recerca (CER) de Neurociències de la Universitat de Barcelona. 1999.
- Solicitada para realizar revisiones de artículos científicos en las revistas American Journal of Pharmacogenetics, CNS Drugs y American Journal of Medical Genetics (Neuropsychiatric Section)