



Universidad de Granada

Programa de Doctorado en Biomedicina

Identificación de factores genéticos de riesgo  
asociados al origen de la depresión  
(Estudio PISMA-ep)

Ana Ching López

Tesis doctoral  
Granada, 2016

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales

Autora: Ana Ching López

ISBN: 978-84-9125-925-1

URI: <http://hdl.handle.net/10481/43893>



Universidad de Granada



# Identificación de factores genéticos de riesgo asociados al origen de la depresión (Estudio PISMA-ep)

Tesis doctoral presentada por

**Ana Ching López**

para optar al grado de

Doctora con Mención Internacional

Dirigida por las Doctoras

Blanca Gutiérrez Martínez

Margarita Rivera Sánchez

Granada, 2016



La doctoranda **Ana Ching López** y las directoras de la tesis **Blanca Gutiérrez Martínez** y **Margarita Rivera Sánchez**, garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por la doctoranda bajo la dirección de las directoras de la tesis, y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada, 1 de abril de 2016

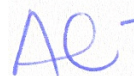
Directoras de la Tesis



Fdo.: Blanca Gutiérrez Martínez  
Margarita Rivera Sánchez



Doctoranda



Fdo.: Ana Ching López



Esta tesis doctoral es fruto del trabajo de investigación realizado gracias a las siguientes fuentes de financiación:

- Beca de Formación de Profesorado Universitario (FPU) del Ministerio de Educación, Gobierno de España (AP2010-3563).
- Estudio Epidemiológico sobre Salud Mental en la Comunidad Andaluza: Proyecto PISMA-ep (Fase de Pilotaje en la Provincia de Granada). Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (PI0322/2009).
- Astra-Zeneca en acuerdo con el Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España.
- Estudio Epidemiológico sobre el Trastorno Mental "PISMA-ep": Un estudio andaluz incluido en la iniciativa *World Mental Health Survey*. Consejería de Innovación de la Junta de Andalucía (CTS-6682).
- Beca Fórmula Santander de movilidad internacional del Banco Santander para la realización de una estancia de seis meses en el *MRC Social, Genetic and Developmental Psychiatry Centre, Institute of Psychiatry – King's College London*.





*"I stand upon my desk to remind myself that  
we must constantly look at things in a  
different way. See? The world looks very  
different from up here"*

*(Dead Poets Society, 1989)*



# Resumen

La depresión mayor (DM), además de ser el más frecuente de los trastornos mentales, se estima que será la segunda causa de discapacidad en el mundo en el año 2020. Se trata de una enfermedad de etiología compleja donde convergen tanto factores biológicos como ambientales. El objetivo de este trabajo ha sido el estudio de la variabilidad genética en determinados genes candidatos relacionados con procesos de neurodesarrollo y de plasticidad y regulación neuronal, así como en genes implicados en las vías de neurotransmisión monoaminérgica, en relación a su posible papel en la etiología de la DM. Concretamente, se han analizado dos genes clave de la neurotransmisión serotoninérgica (el gen del transportador de serotonina o *SLC6A4* y el gen de la monoamino oxidasa A o *MAOA*) y 91 polimorfismos de tipo SNP (*single nucleotide polymorphism*) en otros genes candidatos para DM.

Este trabajo se enmarca dentro del estudio GranadΣp, un estudio epidemiológico transversal basado en una muestra relativamente grande representativa de la población adulta que vive en la provincia de Granada (sur de España). El GranadΣp se diseñó como un estudio piloto independiente dentro de uno de mayor envergadura que se puso en marcha posteriormente en toda Andalucía (el estudio PISMA-ep). El estudio PISMA-ep es el primer estudio epidemiológico sobre salud mental en Andalucía, y uno de sus principales objetivos es identificar factores genéticos y ambientales de riesgo para DM y otros trastornos psiquiátricos mayores.

Para nuestro trabajo contábamos con la totalidad de la muestra del GranadΣp, 809 participantes, de los que 743 accedieron a donar una muestra biológica para los estudios genéticos. Todos los participantes fueron extensamente evaluados para variables clínicas, psicológicas, socio-demográficas, de estilo de vida y otros factores ambientales. Se usó el diagnóstico *DSM-IV* de DM como variable resultado. Se analizaron los polimorfismos funcionales 5-HTTLPR y uMAOA situados en la región promotora de los genes *SLC6A4* y *MAOA*, y 91 SNPs en otros genes candidatos.

Nuestros resultados muestran una tendencia hacia la asociación entre el polimorfismo 5-HTTLPR del gen *SLC6A4* y la DM. Se observó una mayor frecuencia de portadores del alelo de riesgo (S) entre los casos de DM que entre los controles, aunque estas diferencias no alcanzaron la significación estadística.

En cuanto al polimorfismo uMAOA, se observó mayor frecuencia de genotipos de alta actividad (3.5, 4 y 5) en los casos con DM que en los controles, siendo esta tendencia no significativa. El análisis estratificado por sexos desveló que esta tendencia no significativa persistía tanto en hombres como en mujeres.

Tras el análisis de los 91 SNPs seleccionados para este trabajo, siete SNPs localizados en tres genes candidatos (concretamente el rs623580 del gen *TPH1*; el rs9526236 del gen *HTR2A*; y los rs17689966, rs173365, rs7209436, rs110402 y rs242924 del gen *CRHR1*) mostraron una tendencia hacia la asociación con DM. El análisis haplotípico del gen *CRHR1* desveló una asociación estadísticamente significativa entre dicho gen y la DM. En concreto, el haplotipo TATGA (rs7209436–rs110402–rs242924–rs173365–rs17689966) y el haplotipo TAT (rs7209436–rs110402–rs242924), aumentaban significativamente el riesgo para sufrir DM en nuestra muestra.

En conjunto, los resultados obtenidos en esta tesis apoyan la posible implicación del sistema serotoninérgico y del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal en el origen de la DM.

# Abstract

Major depressive disorder (MDD), besides being the most common mental illness, will be the second cause of disability worldwide by the year 2020. This is a disorder of complex etiology in which both biological and environmental factors converge. The aim of this work has been the study of the genetic variability in some candidate genes related to neurodevelopmental processes and neuronal plasticity and regulation, as well as candidate genes involved in monoaminergic neurotransmission, in relation to its plausible role in the etiology of MDD. Specifically, we analyzed two key genes of the serotonergic neurotransmission (the serotonin transporter gene *SLC6A4*, and the monoamine oxidase A gene *MAOA*) and 91 SNPs of other candidate genes for MDD.

This work falls within the GranadΣp study, a cross-sectional epidemiological survey based on a relatively large sample representative of the adult population living in the province of Granada (southern Spain). This study was design to serve as a self-contained pilot study for a larger cross-sectional study using a sample of the entire Andalusia region (the PISMA-ep study). The PISMA-ep study is the first epidemiological study of mental health in Andalusia, and one of its main aims is to identify genetic and environmental risk factors for MDD and other major psychiatric disorders.

For our study, we had the entire sample from the GranadΣp study. Out of 809 participants, 743 agreed to donate a biological sample or subsequent genetic analyses. All individuals were extensively assessed for clinical, psychological, socio-demographic, life style and other environmental variables. *DSM-IV* diagnosis of MDD was used as the outcome variable. The 5-HTTLPR and uMAOA functional polymorphisms, located in the promoter region of the *SLC6A4* and *MAOA* genes, and 91 SNPs in other candidate genes were explored.

Our results showed a suggestive trend towards association between the 5-HTTLPR polymorphism of the *SLC6A4* gene and MDD. We observed a higher frequency of risk allele (S) carriers in cases with MDD than in controls, although these differences were not statistically significant.

Regarding the uMAOA polymorphism, we observed a higher frequency of high-activity genotypes (3, 4 and 5) in cases with MDD than in controls, being this trend not significant. The analysis stratified by gender revealed that this non-significant trend was persistent both in men and women.

After the analysis of the 91 SNPs selected for this work, seven SNPs located in three candidate genes (in particular, the rs623580 in *TPH1* gene; the rs9526236 in *HTR2A* gene; and rs17689966, rs173365, rs7209436, rs110402 and rs242924 in *CRHR1* gene) showed a trend towards association with MDD. The haplotype analysis of *CRHR1* gene revealed a statistically significant association between such gene and MDD. In particular, the TATGA haplotype (rs7209436–rs110402–rs242924–rs173365–rs17689966) and the TAT haplotype (rs7209436–rs110402–rs242924) significantly increased the risk for MDD in our sample.

On balance, the results obtained in this thesis support the plausible involvement of both the serotonergic system and the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the etiology of MDD.

# Índice

<b>I. Introducción.....</b>	<b>1</b>
1. La depresión a lo largo de la historia.....	3
1.1. La Antigüedad clásica.....	3
1.2. La Edad Media.....	4
1.3. El Renacimiento y la Edad Moderna.....	4
1.4. Los siglos XIX y XX.....	5
2. La depresión en la actualidad.....	7
2.1. Concepto de depresión y diagnóstico.....	7
2.2. Epidemiología de la depresión.....	10
2.3. Curso y pronóstico.....	15
2.4. Tratamiento.....	16
2.4.1. Tratamiento farmacológico.....	16
2.4.2. Tratamientos psicológicos.....	19
2.4.3. Terapia electroconvulsiva.....	20
2.4.4. Otras terapias.....	20
3. Etiología de la depresión.....	22
3.1. Factores de riesgo psicosocial.....	23
3.1.1. Personalidad.....	23
3.1.2. Género.....	24
3.1.3. Edad.....	26
3.1.4. Estado civil.....	27
3.1.5. Nivel educativo.....	27
3.1.6. Estatus socioeconómico.....	28
3.1.7. Estatus laboral.....	29
3.1.8. Urbanicidad.....	30
3.2. Factores ambientales.....	30
3.2.1. Adversidad en la infancia o adolescencia.....	30
3.2.2. Acontecimientos vitales estresantes.....	31
3.2.3. Apoyo social.....	32
3.3. Factores biológicos de riesgo.....	33
3.3.1. Hipótesis biológicas actuales.....	33
3.3.1.1. Hipótesis de la alteración de la neurotransmisión.....	35

3.3.1.2. Hipótesis neuroendocrina .....	41
3.3.1.3. Hipótesis inmunológica.....	43
3.3.1.4. Hipótesis neurotrófica .....	44
3.3.2. Bases genéticas de la depresión .....	45
3.3.2.1. Estudios de familia, gemelos y adopción.....	47
3.3.2.2. Estudios de ligamiento y asociación genética .....	52
3.3.2.3. Nuevos abordajes metodológicos .....	66
3.3.3. Interacción genético-ambiental y riesgo de depresión.....	76
4. Justificación de la presente tesis doctoral.....	81
<b>II. Hipótesis y objetivos.....</b>	<b>83</b>
<b>III. Muestra y métodos .....</b>	<b>87</b>
1. Contexto y diseño del estudio .....	89
2. La muestra.....	90
3. Medidas.....	92
4. Diagnóstico de depresión mayor .....	95
5. Análisis genéticos .....	96
6. Análisis estadísticos .....	105
<b>IV. Resultados.....</b>	<b>111</b>
<b>Genetic association analyses between 5-HTTLPR, uMAOA and major depression. 115</b>	
Resumen .....	115
Abstract.....	117
1. Introduction.....	119
2. Materials and methods .....	121
3. Results .....	124
4. Discussion .....	129
5. Conclusion .....	134
Acknowledgements .....	134
<b>Epidemiological support for genetic variability at hypothalamic-pituitary-adrenal axis and serotonergic system as risk factors for major depression.....</b>	<b>135</b>
Resumen .....	137
Abstract.....	139
1. Introduction.....	141
2. Materials and methods .....	142
3. Results .....	146
4. Discussion .....	151



5. Conclusion .....	155
Acknowledgements .....	156
<b>V. Discusión general .....</b>	<b>159</b>
1. Estudio de asociación genética entre el polimorfismo 5-HTTLPR y depresión mayor .....	161
2. Estudio de asociación genética entre el polimorfismo uMAOA y depresión mayor ...	163
3. Estudio de asociación genética entre 91 SNPs en genes candidatos y depresión mayor .....	164
4. ¿Por qué es tan difícil identificar las bases genéticas de la depresión mayor?.....	168
5. Perspectivas de futuro .....	171
<b>VI. Conclusiones.....</b>	<b>173</b>
<b>VII. Bibliografía.....</b>	<b>179</b>
<b>Publicaciones relacionadas.....</b>	<b>223</b>

## Figuras

Figura 1. Las diez primeras causas de discapacidad en el mundo .....	12
Figura 2. Un mundo en depresión.....	14
Figura 3. Mecanismo de acción de los fármacos antidepresivos.....	18
Figura 4. Representación esquemática de la neurobiología de la depresión .....	34
Figura 5. Biosíntesis de la serotonina y representación de una neurotransmisión serotoninérgica.....	38
Figura 6. Asociación y ligamiento.....	53
Figura 7. Placa TaqMan® OpenArray™.....	97
Figura 8. Chips de genotipado TaqMan® OpenArray™ diseñados para el estudio Granad $\Sigma$ p.....	98
Figura 9. <i>Workflow</i> del genotipado con el equipo TaqMan® OpenArray™ .....	101
Figura 10. Genotipos del polimorfismo 5-HTTLPR en gel de agarosa .....	103
Figura 11. Genotipos del polimorfismo uMAOA en gel de agarosa.....	105
Figura 12. Association between uMAOA polymorphism and risk for MDD .....	129
Figura 13. Granad $\Sigma$ p study sample and response rates.....	147
Figura 14. Manhattan plot displaying association results between the 85 SNPs and MDD .....	149

## Tablas

Tabla 1. Criterios diagnósticos de la Depresión Mayor basados en el DSM-5.....	9
Tabla 2. Factores que podrían explicar la diferencia en la tasa de depresión entre hombres y mujeres.....	26
Tabla 3. Cambios funcionales y estructurales en el área límbica y el córtex prefrontal en depresión .....	35
Tabla 4. Metaanálisis de estudios de asociación entre genes candidatos y depresión mayor .....	57
Tabla 5. Genes asociados a trastornos psiquiátricos.....	68
Tabla 6. Resumen de los GWAS en depresión mayor.....	69
Tabla 7. Sociodemographic and clinical characteristics of the sample.....	125
Tabla 8. Genotype distribution of the 5-HTTLPR polymorphism in the whole sample, MDD cases, and controls in the Granad $\Sigma$ p study .....	126

Tabla 9. Allele distribution of the uMAOA polymorphism in MDD cases and controls in the GranadΣp study.....	127
Tabla 10. Genotype distribution of the uMAOA polymorphism in MDD cases and controls in the GranadΣp study.....	127
Tabla 11. Low- and high-activity uMAOA allele and genotype frequencies in cases with MDD versus controls.....	128
Tabla 12. Sociodemographic and clinical profile of the GranadΣp sample.....	148
Tabla 13. Single marker association analyses between the top 7 risk SNPs and MDD in the GranadΣp study.....	149
Tabla 14. Estimated <i>CRHR1</i> haplotypes frequencies in cases and controls.....	150
Tabla 15. Association analyses between the 85 SNPs and MDD in the GranadΣp study...	157

## Boxes

Box 1. Circuitos de la serotonina .....	37
Box 2. Principales hallazgos de estudios de genética clásica en la depresión.....	52
Box 3. Estudios de ligamiento vs estudios de asociación.....	55
Box 4. Secuenciación de genoma/exoma completo.....	75
Box 5. ¿Cómo funciona un experimento de genotipado TaqMan®?.....	100



## ***I. Introducción***

---



*“Si el miedo y la tristeza se prolongan, es melancolía” (Hipócrates de Cos)*

## **1. La depresión a lo largo de la historia**

La depresión (del latín *depressus*, abatimiento) ha acompañado al ser humano a lo largo de la historia. Se trata de uno de los trastornos mentales más antiguos de los que se tiene constancia. No obstante, la definición e interpretación que de ella se ha hecho ha ido variando con el tiempo (Luque & Berrios, 2011). Inicialmente denominada melancolía (del griego μελαγχολία, bilis negra), su gran impacto en nuestra civilización y cultura se pone de manifiesto a través de numerosas obras literarias y artísticas, desde el famoso grabado *Melancolía I* del pintor alemán Alberto Durerro (1514) hasta la aclamada película *Melancholia* del cineasta danés Lars Von Trier (2011) o *Inside Out*, la última obra maestra de los estudios de animación Pixar (2015).

### **1.1. La Antigüedad clásica**

Se encuentran descripciones de la melancolía y sus síntomas en muchos registros literarios y médicos de la humanidad, aunque es en la Grecia clásica donde se aborda por primera vez este trastorno del ánimo de forma explícita y sin tantos adornos literarios (Luque & Berrios, 2011).

El paradigma médico de la cultura griega clásica se guiaba por la teoría hipocrática de los humores (Hipócrates de Cos, 470-370 a. C.), según la cual cuatro líquidos corporales o humores, la sangre, la flema, la bilis negra y la bilis amarilla, regían la salud y la enfermedad. Según esta teoría el temperamento de una persona era determinado por el equilibrio entre dichos humores y era concretamente un exceso de bilis negra lo que determinaba un comportamiento pesimista, apático y afectado por tristeza. La teoría humoral se mantendría hasta prácticamente el siglo XVII (Paykel, 2008).

## **1.2. La Edad Media**

Durante la Edad Media, las obras de griegos y romanos siguen presentes por medio de la medicina árabe, que aparece a partir de la expansión del Islam en el siglo VII. En el siglo X en Bagdad, Ishaq Ibn Imran dedica un tratado muy significativo a la melancolía, *Magâla fî âl-Malîhûliyâ* o *Tratado de la Melancolía* (Omrani, Holtzman, Akiskal, & Ghaemi, 2012). En él explica que esta enfermedad tiene su origen en factores físicos, pero también apunta que puede estar motivada por el miedo, el tedio o la ira.

Entre los cristianos destaca Constantino el Africano (1020-1087), quien traduce la obra de Ishaq Ibn Imran en el siglo XI y describe por primera vez los síntomas más característicos y el pronóstico de la enfermedad. Desde un punto de vista religioso en esa época la melancolía se categorizó como “demonio” (tentación o pecado), y se relacionó con algún tipo de posesión demoníaca o castigo divino. Tanto es así que la tristeza llegó a formar parte de los ocho pecados capitales, para más tarde ser eliminada del conjunto por Santo Tomás de Aquino (Davison, 2006).

## **1.3. El Renacimiento y la Edad Moderna**

En los comienzos del Renacimiento durante el siglo XV, lo que hasta el momento se conocía por melancolía adquiere nuevos matices de sofisticación relacionados con la creación artística e intelectual. Fue el médico de Florencia, Marsilio Ficino (1433-1499), quien comentando un texto de Aristóteles propone la idea de que las personas melancólicas poseen mayor genio creativo. Desde entonces, el Renacimiento ensalza al melancólico, y la melancolía se convierte en tema predilecto tanto literario como dramático. En el año 1621, Robert Burton (1577-1640) publica la gran obra de la época *Anatomía de la melancolía*, un exhaustivo ensayo médico y filosófico donde resume todos los conocimientos sobre el tema habidos hasta la fecha (Burton, 1989). La obra ofrece una concepción multifactorial de la depresión tanto en sus causas como en sus remedios, es decir, la enfermedad no tiene por qué tener una causa y remedio únicos, sino que pueden ser varios (Davison, 2006; Paykel, 2008).



En la época de la Revolución Científica y su visión mecanicista del mundo, al entrar el siglo XVII, la coyuntura social favorece una ruptura con las teorías clásicas sobre la melancolía y se abandona el viejo modelo hipocrático de los humores. El médico inglés Thomas Willis (1621-1675) fue el primero en rechazar activamente el hasta ahora inamovible paradigma de los cuatro humores, y propone una explicación de las causas de la melancolía basada en procesos químicos del cerebro y del corazón. Poco a poco se va avanzando en el conocimiento de la enfermedad. En 1725, Richard Blackmore (1650-1729) médico y poeta del rey Guillermo III de Inglaterra acuña por primera vez el hoy tan popular término de depresión para describir estados de profunda tristeza y melancolía, aunque aún habrán de pasar muchos años hasta que este se imponga por completo (Paykel, 2008).

#### **1.4. Los siglos XIX y XX**

A lo largo del siglo XIX se avanza en la comprensión de la enfermedad mental y sus mecanismos. Philippe Pinel (1745-1826), médico francés considerado el padre de la psiquiatría moderna, atribuye el origen de los trastornos del humor a la percepción y las sensaciones. Junto con su principal discípulo, Jean-Étienne-Dominique Esquirol (1772-1840), sientan las bases para un cambio en la nosología de la época. A medida que evoluciona la psiquiatría, la terminología empleada para referirse a la melancolía o a la depresión adquiere mayor especificidad y claridad.

El paso al siglo XX queda marcado por las contribuciones de dos grandes médicos, Kraepelin y Freud, quienes estudiaron la enfermedad en profundidad (Berrios & Hauser, 1988). Sigmund Freud (1856-1939) enmarcó la enfermedad en su modelo psicoanalítico, y planteó la hipótesis psicodinámica de la depresión relacionándola con pérdidas emocionales relevantes en la infancia que se repiten en la vida adulta. Por su parte, Emil Kraepelin (1856-1926) en su *Compendium der psychiatrie* (1883) estableció las bases de la nosología psiquiátrica moderna. Su sistema de clasificación de los trastornos mentales se basaba en la agrupación de los síntomas y la observación del curso de la enfermedad. Además, hizo importantes aportaciones al campo de la psicofarmacología o el efecto de las

drogas en el sistema nervioso. Por todo ello la *Encyclopedia of psychology* (1972) del psicólogo H. J. Eysenck lo identifica como el fundador de la psiquiatría científica moderna, así como la psicofarmacología y la genética psiquiátrica (Berrios, 1988; Luque & Berrios, 2011).

A lo largo del siglo XX se profundiza en la comprensión de los mecanismos fisiológicos, bioquímicos y farmacológicos relacionados con la depresión. Nace la biopsiquiatría, que estudia estos mecanismos como causantes de los trastornos mentales. Uno de los grandes éxitos fue el desarrollo de la teoría de las monoaminas, según la cual la depresión está relacionada con un déficit del neurotransmisor serotonina en el espacio intersináptico (Palazidou, 2012).

Para que los clínicos e investigadores pudieran diagnosticar, estudiar e intercambiar información de los distintos trastornos mentales, en 1952 se publicó la primera edición del Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (en inglés *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*; DSM-I), que contiene una clasificación de los trastornos mentales y proporciona descripciones de las categorías diagnósticas (Grob, 1991). La edición más reciente de este manual es el DSM-5, de mayo de 2013 (American Psychiatric Association, 2013). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda el uso del sistema internacional denominado Clasificación internacional de enfermedades (CIE-10; en inglés *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*, ICD-10) (World Health Organization, 1992).

*“Una de cada cuatro personas padecerá alguna enfermedad mental a lo largo de su vida”*

## **2. La depresión en la actualidad**

### **2.1. Concepto de depresión y diagnóstico**

Con frecuencia la depresión se identifica con sentimientos de tristeza e infelicidad. Esa definición, sin embargo, no es correcta porque la tristeza o la infelicidad son sentimientos que están presentes en todos nosotros, inherentes a nuestra naturaleza, y no todos estamos deprimidos. ¿Quién no se ha sentido triste o infeliz en algún momento de su vida? Éstas son capacidades emocionales que han aparecido a lo largo de la evolución en respuesta a distintas presiones selectivas, solucionando adaptativamente problemas concretos importantes para la supervivencia del ser humano. Desde un punto de vista evolutivo, los síntomas psicopatológicos pueden ser entendidos como extremos de variación de funciones mentales normales (Sanjuán, 2011). Un sentimiento extremo de tristeza, sin embargo, no es suficiente para hablar de depresión clínica. Esa tristeza tiene que venir acompañada de otros síntomas mentales, perdurar en el tiempo e inducir discapacidad para poder ser considerada como parte de un trastorno mental.

*“Depression is the most unpleasant thing I have ever experienced. [...] It is that absence of being able to envisage that you will ever be cheerful again. The absence of hope. That very deadened feeling, which is so very different from feeling sad. Sad hurts but it's a healthy feeling. It is a necessary thing to feel. Depression is very different” (J.K. Rowling)*

La depresión se caracteriza principalmente por la presencia de un humor deprimido (hipotimia), pérdida de interés o placer en las actividades diarias (anhedonia), sentimientos de culpa o falta de autoestima, trastornos del sueño o del apetito, pérdida de energía y sensación de cansancio (fatigabilidad) y falta de concentración (Paykel, 2008).

Como ocurre con el resto de trastornos mentales, la definición de depresión no deja de ser arbitraria, basada en criterios estandarizados y consensuados pero con una validez de constructo discutible (Paykel, 2008). El desconocimiento de las causas de este trastorno, la dificultad para delimitar los diferentes síntomas, la enorme variabilidad tanto etiológica como clínica de los cuadros depresivos, y la falta de marcadores biológicos, bioquímicos o de cualquier otro tipo que permitan un diagnóstico fiable y objetivo, dificultan enormemente el estudio y abordaje clínico de la depresión.

Aún así, tal y como se ha comentado anteriormente, existen diversos organismos que, en función de la presencia de determinados síntomas clínicos, han establecido distintos baremos de valoración y clasificación. Los sistemas de clasificación más usados a nivel clínico y de investigación son el DSM-IV-TR y DSM-5, de la Asociación Americana de Psiquiatría (American Psychiatric Association, 2000, 2013), y la CIE-10, de la OMS (World Health Organization, 1992).

La actual categoría diagnóstica de depresión mayor (DM) se basa en el uso de sumas de puntuaciones de síntomas y umbrales. El número de síntomas es el foco principal mientras que los síntomas específicos se ignoran. Sin embargo, este enfoque puede crear diferencias dramáticas entre los individuos depresivos en relación a los síntomas que presentan (Faravelli, Servi, Arends, & Strik, 1996; Fried & Nesse, 2014; Parker, 2005).

La CIE-10 emplea un listado de diez síntomas depresivos generales para el diagnóstico de la enfermedad, y otro listado más amplio para determinar la gravedad del episodio depresivo (World Health Organization, 1992). Por su parte, el DSM-IV-TR (American Psychiatric Association, 2000) y su actualización más reciente, el DSM-5 (American Psychiatric Association, 2013), describen nueve síntomas de DM: 1) humor deprimido, 2) pérdida de interés o placer en las actividades diarias, 3) incremento o pérdida de peso o apetito, 4) insomnio/hipersomnia, 5) agitación o enlentecimiento psicomotor, 6) fatiga o pérdida de energía, 7) sentimientos de inutilidad o culpa inapropiados o excesivos, 8) capacidad disminuida para pensar o concentrarse, o mayor indecisión y 9) pensamientos recurrentes de muerte o ideación suicida (Tabla 1).

En ambos casos, para que se cumplan criterios de DM, una persona tiene que presentar cinco o más síntomas (al menos uno ha de ser el síntoma uno o el dos: humor deprimido o anhedonia) durante un periodo mínimo de dos semanas. Esta metodología puede dar lugar a que dos personas que cumplen criterios para un diagnóstico de DM no tengan ni un solo síntoma en común, lo que complica enormemente la investigación sobre la enfermedad.

**Tabla 1.** Criterios diagnósticos de la Depresión Mayor basados en el DSM-5 (American Psychiatric Association, 2013).

<b>Depresión mayor</b>
<b>Criterios diagnósticos</b>
<p>A. Cinco o más de los siguientes síntomas (al menos uno ha de ser el síntoma uno o el dos: humor deprimido o pérdida de interés o placer) han ocurrido juntos durante un periodo mínimo de dos semanas y representan un cambio con respecto al funcionamiento previo.</p> <p>Nota: No incluir síntomas que claramente son debidos a una condición médica general, delirios incongruentes con el humor o alucinaciones.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Humor deprimido la mayor parte del día, casi cada día, reportado de forma subjetiva (ej. se siente triste o vacío) o por observación de otros (ej. parece triste o lloroso). Nota: En niños y adolescentes puede tratarse de humor irritable.</li> <li>2. Pérdida de interés o placer en las actividades diarias la mayor parte del día, casi cada día (reportado de forma subjetiva o por observación de otros).</li> <li>3. Pérdida significativa de peso cuando no se está a dieta o ganancia de peso (cambio de más del 5% del peso corporal en un mes); o pérdida o aumento de apetito casi cada día. Nota: En niños no se suele esperar ganancia de peso.</li> <li>4. Insomnio o hipersomnia casi cada día.</li> <li>5. Agitación o entecimiento psicomotor casi cada día (observable por otros, no simplemente sentimientos subjetivos).</li> <li>6. Fatiga o pérdida de energía casi cada día.</li> <li>7. Sentimientos de inutilidad o culpa inapropiados o excesivos (pueden ser delirios) casi cada día (no solo remordimientos o culpa por estar enfermo).</li> <li>8. Capacidad disminuida para pensar o concentrarse, o mayor indecisión, casi cada día (reportado de forma subjetiva o por observación de otros).</li> <li>9. Pensamientos recurrentes de muerte (no solo miedo de morir) o ideación suicida sin un plan específico, o un intento de suicidio o un plan específico para cometer suicidio.</li> </ol> <p>B. Los síntomas causan sufrimiento clínicamente relevante o impedimento social, ocupacional o de otras áreas importantes del funcionamiento.</p> <p>C. Los síntomas no son debidos a efectos fisiológicos derivados directamente de una sustancia (ej. abuso de drogas, medicamentos) o de una condición médica general (ej. hipotiroidismo).</p>

Cuando se sospecha la existencia de DM en un paciente, el primer paso debería ser descartar otras condiciones que puedan imitar o coexistir con la DM. En este caso se recurre a un diagnóstico diferencial, procedimiento gracias al que podemos identificar una determinada enfermedad mediante la exclusión de otras posibles causas con cuadro clínico semejante al padecido por el paciente.

Hay muchas condiciones médicas o psiquiátricas que pueden reproducir algunos o todos los síntomas de la DM o que pueden ocurrir de forma comórbida (Felker, Yazel, & Short, 1996). Por ello, para un buen diagnóstico diferencial, es primordial identificarlas bien y así evitar una posible falta de tratamiento, o que éste sea inefectivo y potencialmente dañino para la verdadera causa subyacente (Witztum, Margolin, Bar On, & Levy, 1995). Entre estas condiciones que imitan o coexisten con la DM, destacan: i) abuso de sustancias, que causan un humor deprimido (ej. drogas, alcohol, medicación), ii) enfermedades médicas, causantes de un humor deprimido (ej. hipotiroidismo), iii) otras enfermedades psiquiátricas como manía, hipomanía, trastorno bipolar, ansiedad, trastorno esquizoafectivo, esquizofrenia, y iv) pérdida, a no ser que los síntomas persistan a lo largo de dos meses o se muestre un marcado impedimento funcional, preocupación mórbida con sentimientos de inutilidad, ideación suicida, síntomas psicóticos o enlentecimiento psicomotor.

Además, en algunos casos, ciertas categorías de edad (niños, adolescentes y personas mayores) presentan síntomas particulares y patrones comportamentales que sugieren la presencia de DM (Kessler et al., 2010; Kessler et al., 2003). Por ejemplo, es difícil discernir entre DM y demencia en personas de edad avanzada ya que existen pacientes depresivos con alteraciones en la memoria, y pacientes con demencia que presentan depresión (Wright & Persad, 2007).

## **2.2. Epidemiología de la depresión**

La DM es el más frecuente de los trastornos mentales y, además, una de las principales causas de discapacidad en el mundo (Chisholm, 2014; Demyttenaere et al., 2004) (ver Figura 1). Esto es debido principalmente a la gran cantidad de

personas que sufren esta enfermedad, aproximadamente 400 millones (alrededor del 6% de la población global actual; (Chisholm, 2014; Vos et al., 2015; Whiteford, Ferrari, Degenhardt, Feigin, & Vos, 2015).

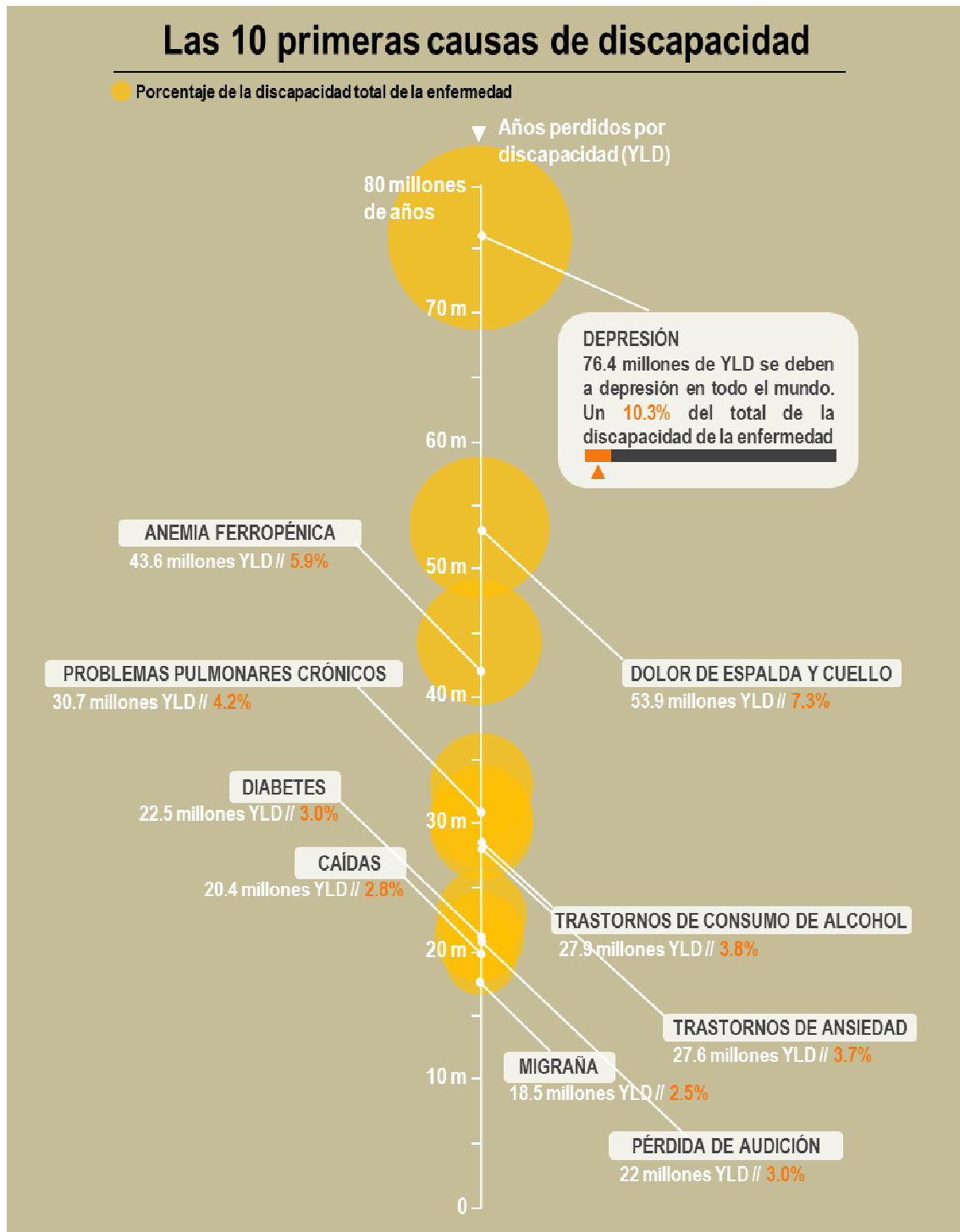
En los datos más recientes de la OMS sobre este tema, el estudio del año 2010 sobre la carga mundial de las enfermedades, la DM suponía un total de más de 76 millones de años vividos con discapacidad (*years lived with disability*; YLDs) (Smith, 2014; Whiteford et al., 2013). En 1990 era la cuarta causa más común de pérdida de años de vida ajustados por discapacidad (*disability-adjusted life years*; DALYs) global, y según la OMS, para el año 2020 la depresión será la segunda causa de discapacidad en el mundo, solo por detrás de las enfermedades cardiovasculares (Whiteford et al., 2015). La DM también se ha identificado como una de las principales causas de YLDs en España según el último informe del *Institute for Health Metrics and Evaluation* (Lara et al., 2014; Vos et al., 2015).

La depresión tiene un impacto más allá de los pacientes. Aparte de las experiencias subjetivas de las personas con depresión, el impacto en el funcionamiento social y ocupacional, en la salud física y en la mortalidad es sustancial (National Collaborating Centre for Mental Health, 2010). Cuando ordenamos las enfermedades según discapacidad y muerte combinadas, la depresión queda en noveno lugar tras prolíficos asesinos como las enfermedades cardíacas, los infartos cerebrales o el VIH. Aún así, en muchas ocasiones, la depresión no se diagnostica ni trata. Por otro lado, el estigma asociado de forma general con los problemas de salud mental (Sartorius, 2007) contribuye en parte a la reticencia de las personas con depresión a buscar ayuda (Barney, Griffiths, Jorm, & Christensen, 2006; Schomerus, Matschinger, & Angermeyer, 2009). A este hecho se suma lo inadecuado de los recursos en salud mental, sus costes directos e indirectos a los que a pesar de la enorme carga que suponen en los sistemas de salud, y en general en la sociedad, se les sigue prestando poca atención (Kessler, 2012; Sobocki, Jönsson, Angst, & Rehnberg, 2006).

Casi la mitad de la población mundial vive en un país donde solo hay dos psiquiatras por cada 100,000 habitantes. Por ejemplo, encontramos la mayor prevalencia de depresión (22%) en Afganistán, un país asolado por conflictos de

guerra que cuenta solo con 0.16 psiquiatras por cada 100,000 habitantes. En el otro extremo se encuentra Suiza, con más de 40 psiquiatras por cada 100,000 habitantes y una prevalencia de depresión del 6.16% (Ferrari et al., 2013).

**Figura 1.** Las diez primeras causas de discapacidad en el mundo (adaptado de Smith, 2014).





La depresión causa mayor deterioro en el estado de salud que las enfermedades crónicas principales como la angina, la artritis, el asma o la diabetes. También agrava significativamente la salud de personas con problemas físicos crónicos en comparación con enfermedades físicas solas o incluso combinaciones de enfermedades físicas (Moussavi et al., 2007). Además, se ha observado un mayor riesgo de muerte para un gran rango de problemas de salud físicos cuando se presentan de forma comórbida con depresión (Cassano & Fava, 2002).

Según el nuevo estudio *Global Burden of Disease*, la DM se considera un factor de riesgo independiente en el desarrollo de la enfermedad coronaria (Barth, Schumacher, & Herrmann-Lingen, 2004; Charlson, Stapelberg, Baxter, & Whiteford, 2011). Asimismo, también se considera la DM como un factor de riesgo para el suicidio (Li, Page, Martin, & Taylor, 2011). El suicidio representa casi el 1% de todas las muertes, y casi dos tercios de ese porcentaje ocurren en personas con depresión (Sartorius, 2001). Dicho de otra manera, tener depresión aumenta el riesgo de suicidio algo más de cuatro veces en relación con la población general, y casi unas veinte veces si tenemos en cuenta los casos más graves de la enfermedad (Bostwick & Pankratz, 2000). También es interesante destacar que en las personas con DM la mortalidad se ve elevada (Wulsin, Vaillant, & Wells, 1999).

La DM tiene una prevalencia-vida estimada de alrededor del 15% en población general (Kato, 2007; Kessler et al., 2003), aunque las estimaciones mundiales de la proporción de personas que es probable que experimenten DM a lo largo de su vida varían ampliamente entre los diferentes estudios y parámetros usados en los mismos, así como entre países (Kessler & Bromet, 2013). Las mejores estimaciones se encuentran entre el 4 y el 10% (Waraich, Goldner, Somers, & Hsu, 2004). En España se ha estimado una prevalencia-vida para DM de en torno al 10.5% (Haro et al., 2006). En la Figura 2 se pueden ver algunos datos interesantes sobre la depresión en el mundo.

La DM puede aparecer a cualquier edad, pero gran cantidad de casos empiezan en la adolescencia tardía, a principios-mediados de la edad adulta y en la adultez tardía. Los sondeos mundiales de salud mental (*World Mental Health surveys*; *WMH surveys*) reportan una edad de inicio de la enfermedad que va desde

mediados-finales de la adolescencia, unos 18 años, hasta principios de los 40. En España la edad media de inicio de la enfermedad se sitúa en los 30 años (Kessler & Bromet, 2013).

**Figura 2.** Un mundo en depresión.



El género y algunos factores sociodemográficos como la edad, el estado civil, el nivel educativo, el estatus socioeconómico, el estatus laboral y la urbanicidad provocan grandes variaciones en las tasas poblacionales de prevalencia de los trastornos mentales en general, y de la DM en particular. Estos factores epidemiológicos de riesgo serán descritos más en detalle en el apartado 3.1.

### **2.3. Curso y pronóstico**

La aparición del primer episodio de DM suele ocurrir en la veintena, aunque puede ocurrir en cualquier momento desde la infancia temprana hasta la vejez (Fava & Kendler, 2000). Algunas personas experimentan gran variedad de síntomas diferentes, como ansiedad, fobias, síntomas depresivos moderados y ataques de pánico, en los meses previos a que la enfermedad se instaure por completo, en lo que se conoce como periodo prodrómico. Al igual que éste, la presentación inicial de la enfermedad también varía de forma considerable (National Collaborating Centre for Mental Health, 2010).

La duración media de un episodio es de cuatro a seis meses, aunque en casos particulares puede alcanzar años (Posternak et al., 2006). La DM puede llegar a hacerse crónica, según Kessler et al. (2003) en al menos el 10% de las personas, y es altamente recurrente en algunos individuos, pudiendo dificultar sensiblemente su ejercicio en el trabajo o el estudio, así como su capacidad para afrontar la vida diaria. Además, para muchas personas padecer un episodio depresivo las coloca en riesgo para la aparición de futuros episodios (Fava, Park, & Sonino, 2006). Al menos un 50% de las personas que han tenido un primer episodio depresivo volverán a tener un episodio más y, después del segundo y tercer episodios, el riesgo de recaída aumenta a un 70 y 90% en cada caso (Kupfer, 1991). En su forma más grave, la DM puede conducir al suicidio. Más del 15% de las personas con DM terminan así con su vida (Harwitz & Ravizza, 2000; Lönnqvist, 2000; Lönnqvist et al., 1995).

Cuando los síntomas son mínimos o están ausentes durante al menos tres semanas consecutivas, se asume que la enfermedad está en remisión y si no hay rastro de los síntomas durante al menos cuatro meses después de la remisión, se considera que la persona se ha recuperado del episodio (Ingram, 2009). Normalmente, haya o no tratamiento, los episodios depresivos se resuelven con el tiempo en la mayoría de los individuos, aunque también es cierto que un pequeño porcentaje no se recupera ni con tratamiento (Ingram, 2009; Posternak & Miller, 2001).

## **2.4. Tratamiento**

El tratamiento de la DM se ve dificultado, entre otros, por el rechazo de muchas personas a buscar ayuda y por los fallos a la hora de reconocer o diagnosticar la enfermedad (Goldney, Fisher, & Wilson, 2001; World Health Organization, 2001). Su objetivo principal, tanto para DM como para otras enfermedades mentales, es mejorar la calidad de vida del paciente y de los que le rodean, y en algunos casos ayudar a reintegrar al enfermo en su entorno social, laboral y familiar (Ingram, 2009). Esta intervención pretende devolver la salud al individuo gracias al alivio de los síntomas y a la recuperación de la función de la persona, y, a largo plazo, prevenir recaídas (Kaplan & Sadock, 1999). Siempre que exista la posibilidad, el tratamiento debería aliviar los síntomas de forma completa (remisión), escenario asociado a un mejor funcionamiento y una menor probabilidad de recaída (Kennedy & Foy, 2005). Aunque no siempre es posible alcanzar la remisión, en la mayoría de los casos hay una gran mejora en los síntomas y el funcionamiento.

Hay un amplio rango de tratamientos eficaces para la DM, entre los que destacamos la terapia farmacológica, la psicoterapia y la terapia electroconvulsiva en casos excepcionales. Actualmente, la terapia más efectiva para la depresión moderada o grave es una combinación de medicamentos antidepresivos y psicoterapia profesional, mientras que para la depresión leve, los tratamientos psicosociales y asesoría sin fármacos pueden ser suficientes (Marcus, Yasamy, van Ommeren, & Chisholm, 2012). Los hábitos de vida saludables como una alimentación adecuada, la actividad física, aprender a relajarse y no consumir alcohol y drogas, pueden ayudar a prevenir la enfermedad y también a evitar su reaparición (Allgöwer, Wardle, & Steptoe, 2001).

### **2.4.1. Tratamiento farmacológico**

A mediados del siglo XX prosperó la farmacología basada en principios psicoactivos para combatir la depresión. Los antidepresivos, junto a los fármacos antipsicóticos, supusieron una auténtica revolución en la terapéutica de las enfermedades mentales. De los primeros antidepresivos descubiertos en los años

50 por accidente, los inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAO) y los tricíclicos, se pasó a los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) entre los que se incluye el famoso Prozac (fluoxetina), lanzado en 1987. Más tarde llegaron otros ISRS, como la paroxetina, la fluvoxamina, el citalopram o el escitalopram, con mayor eficacia y menores efectos secundarios.

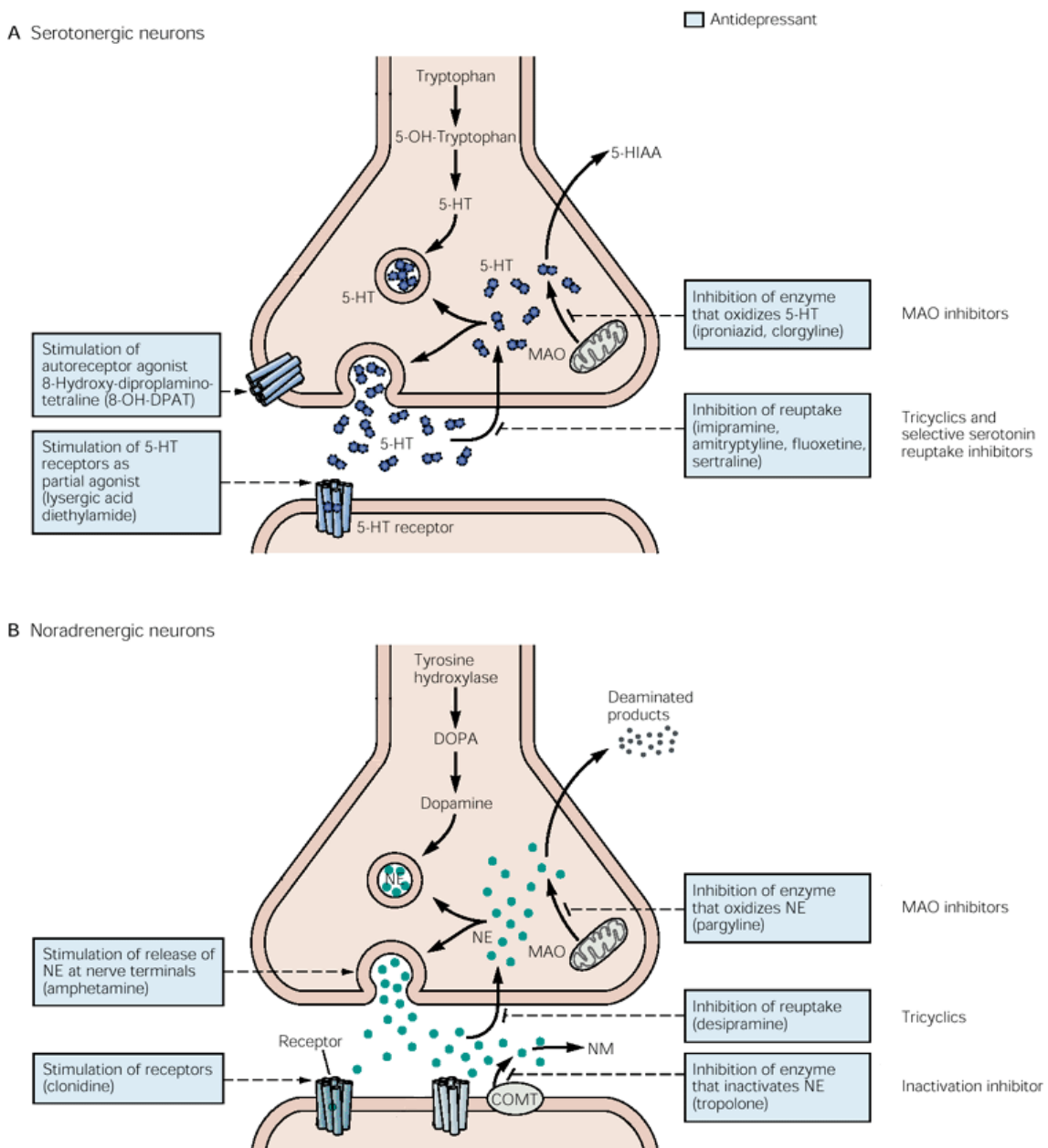
El pilar básico del tratamiento de la DM son los fármacos antidepresivos. Desde sus inicios en la década de los 50, los antidepresivos tricíclicos (ADT) como la imipramina (Kuhn, 1958) han sido ampliamente utilizados en el tratamiento de la depresión. Su modo de acción, que se cree es responsable de una elevación del estado de ánimo, es bloquear la recaptación sináptica de monoaminas como la noradrenalina (NA), la 5-hidroxitriptamina o serotonina (5-HT) y la dopamina (DA). Los ADTs fundamentalmente afectan a la recaptación de NA y 5-HT (Rudorfer & Potter, 1999). En pacientes severamente deprimidos que no responden a esta medicación, se han empleado a veces los IMAOs. Estos facilitan el mantenimiento de niveles adecuados de neurotransmisor en la neurona inhibiendo la actividad de la enzima monoamino oxidasa (MAO), que degrada neurotransmisores monoaminérgicos como la 5-HT, la DA y la NA. El uso de IMAOs requiere gran cautela ya que interacciona peligrosamente con algunos alimentos como el queso o el vino, y algunos medicamentos como los anticonceptivos orales (National Collaborating Centre for Mental Health, 2010).

Dada la escasez de tratamientos específicos para las personas con depresión, se valoró mucho la introducción de los ADTs. Aún así, su aceptación se vio reducida ya que estos mostraron importantes efectos secundarios (especialmente anticolinérgicos, debido a su actuación sobre diversos sistemas de neurotransmisión) y elevada letalidad por sobredosis (National Collaborating Centre for Mental Health, 2010).

Como respuesta, la búsqueda de nuevos antidepresivos pretendía superar estas dificultades e incrementar la eficacia terapéutica. Con los ISRS y otros antidepresivos (ej. Mirtazapina, Nefadozon, Bupropion) (British Medical Association & the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2009) se consiguieron mejorar los efectos secundarios de los ADTs, y así disminuir el

número de abandonos y fallecimientos asociados a los viejos antidepresivos. Aunque tanto sus propiedades como efectos adversos varían de forma considerable, su mecanismo de acción parece ser similar: elevación del estado de ánimo incrementando los niveles intra-sinápticos de monoaminas, algunos implicando principalmente la NA, otros la 5-HT y otros implicando a ambos neurotransmisores (ver Figura 3).

**Figura 3.** Mecanismo de acción de los fármacos antidepresivos.



Los ISRS son la primera línea de tratamiento en depresión. Son más seguros y presentan menos efectos adversos comparados con otros tipos de antidepresivos. Los ISRS actúan inhibiendo la recaptación del neurotransmisor 5-HT a la neurona presináptica, lo que eleva la concentración de 5-HT disponible en el espacio intersináptico para unirse al receptor postsináptico. Presentan distintos grados de selectividad para otros sistemas de neurotransmisión, siendo el Citalopram y el Escitalopran los fármacos más selectivos.

Hoy en día, la utilización de fármacos antidepresivos es abrumadora. Prácticamente no existe ningún trastorno psiquiátrico en el que no se haya estudiado el efecto terapéutico de los antidepresivos.

#### 2.4.2. Tratamientos psicológicos

El tratamiento psicológico es la intervención no farmacológica más común para hacer frente a la depresión, y se considera que todos los pacientes con depresión, a pesar de estar sometidos a otro tipo de tratamiento, deberían recibir además tratamiento psicológico (Kupfer & Frank, 2001).

La psicoterapia es la aplicación informada e intencionada de métodos clínicos mediante la interacción verbal. Ayuda a las personas a identificar los factores contribuyentes de la DM y a enfrentarse de forma efectiva a estos factores psicológicos, conductuales, interpersonales y derivados de determinadas situaciones (Cuijpers, Huibers, Daniel Ebert, Koole, & Andersson, 2013; Cuijpers, van Straten, Andersson, & van Oppen, 2008). Hay gran variedad de psicoterapias disponibles para tratar los síntomas de la DM, entre las que destacan: la **terapia cognitivo-conductual**, en la que el paciente identifica y modifica patrones de pensamiento y comportamiento que están haciendo que sea más probable que sufra DM o le están impidiendo mejorar una vez enfermo; la **terapia interpersonal**, tratamiento estructurado que se centra en los problemas en las relaciones personales y las habilidades requeridas para lidiar con esos problemas; la **terapia de grupo**; la **terapia familiar** y la **terapia de pareja**. Todas pueden usarse en combinación con farmacoterapia.

El tratamiento combinado con la farmacoterapia tiene como objetivo aumentar la eficacia, mejorar el funcionamiento social y la calidad de vida del paciente, y prevenir o retrasar la recurrencia de la enfermedad (Blom et al., 2007; Lingam & Scott, 2002; Paykel, 1995). La psicoterapia como tratamiento único puede ser muy efectiva en pacientes con una depresión leve (Merriam & Karasu, 1996), mientras que en casos de depresión grave, se obtienen mejores resultados combinando la acción de la farmacoterapia y la psicoterapia (Blom et al., 2007; Merriam & Karasu, 1996).

### **2.4.3. Terapia electroconvulsiva (TEC)**

Otra línea de tratamiento incluye la TEC, un tratamiento físico que implica la estimulación del cerebro usando corriente eléctrica para inducir una breve crisis. Esta técnica parece provocar cambios en la química del cerebro que pueden revertir rápidamente los síntomas de algunos trastornos mentales (Sackeim et al., 2007).

La TEC se suele utilizar como tratamiento para pacientes con depresión grave que no responden a tratamientos de farmacoterapia y/o psicoterapia, especialmente cuando han experimentado serios efectos secundarios con la medicación. Debido al rápido efecto antidepresivo de esta técnica, puede también prescribirse cuando hay alto riesgo de suicidio o cuando un paciente no está bien para comer, beber o tomar medicación (Scott, 2010; The UK ECT Review Group, 2003).

### **2.4.4. Otras terapias**

Se incluyen la fototerapia, la estimulación magnética transcraneal, el ejercicio físico, entre otras.

**Fototerapia:** En la terapia con luz se expone a la persona a una luz brillante, si es posible de alta intensidad, durante media hora cada día. La luz puede provenir de



una lámpara fluorescente convencional o del sol brillante (Young, 2007). Esta terapia está especialmente indicada para aquellos pacientes que sufren trastorno afectivo estacional (TAE), una enfermedad cíclica caracterizada por depresión en los meses de otoño o invierno, y eutimia en primavera y verano (Remick, 2002; Wesner & Tan, 2006).

**Estimulación magnética transcraneal (EMT):** Se trata de un procedimiento usado normalmente por neurólogos como herramienta diagnóstica para testar la función cerebral, y recientemente se ha reconocido como un tratamiento efectivo para depresión (Pascual-Leone, Rubio, Pallardó, & Catalá, 1996). Se coloca una bobina cerca de la cabeza del paciente y se genera un campo magnético que estimula la corteza cerebral. Según el área que se estimule se conseguirán unos efectos u otros, por ejemplo, para el tratamiento de la DM se estimula la zona dorsolateral prefrontal de la corteza cerebral (Loo & Mitchell, 2005; Wassermann & Zimmermann, 2012). Se ha comprobado su seguridad y sus pocos efectos adversos (O'Reardon et al., 2007).

**Ejercicio físico:** El ejercicio regular puede incrementar el nivel de 5-HT en el cerebro, neurotransmisor implicado en la regulación del estado de ánimo, el sueño, la libido, el apetito y otras funciones (Young, 2007). Puede también incrementar el nivel de endorfinas en el cerebro, favoreciendo así la elevación del ánimo (North, McCullagh, & Tran, 1990). El ejercicio físico regular puede aliviar los síntomas de la depresión: aumentando los niveles de energía, mejorando el sueño, sirviendo como distracción de las preocupaciones y rumiaciones, aportando apoyo social y reduciendo la soledad cuando el ejercicio se hace en compañía, y aumentando la autoestima (Craft & Perna, 2004; Lawlor & Hopker, 2001).

*“What is depression like?” he whispered.  
“It’s like drowning. Except you can see everyone  
around you breathing” (Unknown)*

### **3. Etiología de la depresión**

A pesar de su gran importancia, las enfermedades mentales son todavía grandes desconocidas debido en parte a la inaccesibilidad del cerebro. Nos enfrentamos a un órgano nada fácil de estudiar y de cuya fisiología normal poseemos escaso conocimiento. Por ello, no es sorprendente que resulte tan complicado el estudio de su anormal funcionamiento en este tipo de trastornos.

La salud mental está condicionada por la influencia de múltiples factores de diversa índole, tanto de naturaleza biológica (ej. factores genéticos) como psicosocial y ambiental (ej. rasgos de personalidad, acontecimientos vitales estresantes, el hecho de contar o no con apoyo social) (Burmeister, McInnis, & Zöllner, 2008; Cervilla & García-Ribera, 2000).

En particular, en los trastornos depresivos la enorme variación en la presentación, curso y resultados se ve reflejada en el amplio abanico de explicaciones teóricas que se proponen para su etiología.

En los últimos 50 años ha habido numerosas teorías que creían desentrañar la etiología de la depresión, pero todas ellas se basaban en visiones muy estrechas procedentes de distintas disciplinas de conocimiento por separado. Por el contrario, gracias a los avances tecnológicos y a una visión más integradora, en esta última década se han registrado grandes progresos en nuestro conocimiento sobre el funcionamiento del cerebro, en particular sobre su gran plasticidad, tanto física como psicológica, en interacción con el ambiente (Palazidou, 2012).

Cada vez está más claro que tanto los factores psicosociales como los biológicos están íntimamente ligados al origen de la depresión, y que, además, este modelo integrador puede ayudarnos a entender la naturaleza de esta condición.

### **3.1. Factores de riesgo psicosocial**

#### **3.1.1. Personalidad**

Ya en la antigua Grecia, Hipócrates y otros autores relacionaron la personalidad con la salud mental. Postulaban que determinados “humores” eran responsables de los distintos tipos de personalidad. Describían cuatro tipos de personalidades y sugerían que estos determinaban vulnerabilidad frente a enfermedades físicas y mentales (Clark & Watson, 2008). Hoy día, los expertos clasifican la personalidad de diferentes maneras, aunque una de las más extendidas es el modelo de los cinco grandes, que divide los rasgos de personalidad generales en cinco dimensiones, rasgos o factores: apertura a nuevas experiencias, responsabilidad, extraversión, amabilidad y neuroticismo (Goldberg, 1993).

Las evidencias hasta el momento sugieren que la depresión está asociada con determinados rasgos de personalidad, concretamente con el neuroticismo, la extraversión y la responsabilidad, así como con algunos rasgos relacionados, como la evitación del daño, la rumiación y la auto-crítica. Además, los rasgos que definen nuestra personalidad parecen contribuir también al inicio, curso y tratamiento de la enfermedad. Sin embargo, ninguna de estas asociaciones parece ser específica de DM. La mayoría de los rasgos que se han encontrado ligados a DM también parecen estarlo con otras formas psicopatológicas, sobre todo con trastornos de ansiedad (Klein, Kotov, & Bufferd, 2011; Kotov, Gamez, Schmidt, & Watson, 2010).

El neuroticismo es el rasgo de personalidad más estudiado en depresión, y se ha visto asociado con un mayor riesgo para sufrir esta enfermedad (Ormel, Jeronimus, et al., 2013). Se trata de una dimensión de la personalidad, acuñada por Hans Eysenk, donde toda persona puntúa en mayor o menor medida. Puntuaciones altas en neuroticismo se relacionan con ansiedad, inestabilidad e inseguridad emocional, estados de tensión y preocupación constante, sentimientos de culpa y sintomatología psicosomática. Estas personas responden peor al estrés, y tienden a interpretar situaciones normales como amenazantes y frustraciones menores como desesperanzadoras, siendo fácilmente nerviosas o irritables (Boyce, Parker, Barnett, Cooney, & Smith, 1991). El neuroticismo es un posible factor de riesgo para la mayoría de trastornos mentales comunes como la depresión, sin embargo,

esta relación es compleja y aún no podemos entenderla por completo (Ormel, Bastiaansen, et al., 2013; Ormel, Jeronimus, et al., 2013). Por otro lado, este rasgo se ve moderadamente influenciado por el estado clínico, comparte factores etiológicos con DM (ej., genes), predice el inicio de DM e influencia su curso, además parece contribuir al estrés y adversidad e incrementa el riesgo de DM cuando nos enfrentamos a eventos negativos en nuestra vida (Van Os, 2001). Hay evidencias que sugieren que otros rasgos, léase baja extraversión y baja responsabilidad, pueden moderar la relación entre el neuroticismo y la DM (Klein et al., 2011).

El papel de la extraversión en la DM está menos claro, aunque bajos niveles en este rasgo parecen predecir un peor curso de la enfermedad (Farmer et al., 2002). Por su parte, la responsabilidad también parece estar asociada negativamente con la DM (Klein et al., 2011).

### **3.1.2. Género**

Los estudios epidemiológicos realizados en diferentes países, culturas y etnias han encontrado, de forma sistemática, tasas de prevalencia de DM dos veces mayores en mujeres que en hombres (típicamente 5%-12% en hombres y 10%-25% en mujeres) (Nolen-Hoeksema, 2001; Waraich et al., 2004; Weissman et al., 1996). La DM es más común en las mujeres que en los hombres, es decir, estas tienen el doble de probabilidad de experimentar la enfermedad (ratio 2:1), y aunque las causas exactas de esta diferencia entre sexos son aún desconocidas, se cree que están implicados factores psicosociales y neurobiológicos (Nolen-Hoeksema, 2001; Sloan & Kornstein, 2003). Como se observa en la Tabla 2: i) Las mujeres están más dispuestas que los hombres a buscar ayuda y acudir a los servicios médicos y psiquiátricos, por lo que el mayor número de casos documentados podría ser un mero artefacto; ii) Hay más hombres que mujeres con problemas de abuso de alcohol, lo que puede enmascarar los síntomas depresivos y el diagnóstico de depresión dando lugar a un menor número de casos entre los hombres; iii) Las mujeres afrontan gran cantidad de cargas en su vida diaria que podrían contribuir a sus mayores tasas de depresión. Debido a que las mujeres

tienen menos poder y estatus en la mayoría de las sociedades, son más vulnerables que los hombres a experimentar ciertos traumas, particularmente el abuso sexual. Además, disponen de más limitaciones crónicas asociadas a los roles impuestos, léase desventajas socioeconómicas, menor y desigual salario, estatus social bajo o subordinado, acoso, falta de respeto, mayor restricción en sus elecciones y oportunidades, etc. También se ha sugerido que las diferencias entre mujeres y hombres, incluso estando sometidos a los mismos estresores, pueden proceder de diferencias en las respuestas biológicas al estrés, el concepto que se tiene de uno mismo, o los estilos de afrontamiento (Parker & Brotchie, 2010). Con respecto a las respuestas al estrés, últimamente la investigación se ha centrado en los efectos moderadores de las hormonas ováricas y adrenales principalmente, más que en sus efectos directos sobre el ánimo. La desregulación del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HHA; HPA en sus siglas en inglés, *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*), más común en mujeres, puede aumentar la probabilidad de estas de sufrir depresión (Grigoriadis & Robinson, 2007). El HHA juega un papel fundamental en la regulación de las respuestas al estrés principalmente a través de los niveles de la hormona cortisol; iv) Aunque en un principio se pensó en una base genética para la depresión diferente en hombres y mujeres, hasta el momento no se han encontrado evidencias que apoyen esta teoría (Grigoriadis & Robinson, 2007; Kendler & Prescott, 1999; Piccinelli & Wilkinson, 2000).

A pesar de que la mayor prevalencia de depresión en mujeres con respecto a hombres es uno de los hallazgos más replicados en epidemiología psiquiátrica, aún no se conoce la etiología que provoca estas diferencias, aunque se sigue sospechando la implicación de factores neurobiológicos y psicosociales.

**Tabla 2.** Factores que podrían explicar la diferencia en la tasa de depresión entre hombres y mujeres (adaptada de Rivera, 2008).

<b>Factor</b>	<b>Características</b>
Entorno y experiencias traumáticas	Las mujeres se encuentran en situación de mayor riesgo de abuso físico y sexual que los hombres. Además, parecen ser más sensibles a experiencias traumáticas en la infancia
Trastornos afectivos	Las mujeres tienen un mayor riesgo para sufrir trastornos depresivos y de ansiedad en edades tempranas
Rol de género	El conjunto de normas establecidas cultural y socialmente para las mujeres favorece su mayor vulnerabilidad para padecer depresión
Factores genéticos	No parecen contribuir a la diferente prevalencia de DM entre hombres y mujeres
Hormonas reproductivas	Parecen tener un efecto parcial, menor que el efecto que producen las variables ambientales
Eje adrenal y tiroideo	Resultados contrastados para el eje adrenal, y papel limitado del eje tiroideo
Sistemas de neurotransmisión	Funcionamiento diferencial en algunos sistemas como el serotoninérgico

### **3.1.3. Edad**

Las tasas de DM varían según la edad. Algunos grupos de edad presentan una mayor frecuencia de DM (Blazer, Burchett, Service, & George, 1991; Haro et al., 2006; Kessler, McGonagle, Swartz, Blazer, & Nelson, 1993). Por ejemplo, la prevalencia de DM alcanza su nivel más bajo en las personas de edad media, alrededor de los 45 años, mientras que aumenta de forma sustancial en aquellas personas de 80 años en adelante. Esta variación en la prevalencia refleja las ganancias y pérdidas en el matrimonio, el empleo y el bienestar general asociadas a las diferentes etapas de la vida. La DM alcanza su mayor prevalencia en mayores de 80 años debido en parte al detrimento físico asociado a la edad y al bajo control personal, así como a las pérdidas de estatus y personales (Mirowsky & Ross, 1992).

### **3.1.4. Estado civil**

El estado civil es importante en la epidemiología de los trastornos psiquiátricos. Las personas separadas, divorciadas o viudas presentan mayor prevalencia de DM (Bulloch, Williams, Lavorato, & Patten, 2009; Haro et al., 2006; Kessler & Essex, 1982). El matrimonio se ha asociado a bajas tasas de DM porque protege al individuo de la exposición a estrés, dicho de otra manera, las personas casadas están emocionalmente menos dañadas por experiencias estresantes que las personas no casadas (Kessler & Essex, 1982). La alta prevalencia de DM en las personas separadas o divorciadas se debe tanto a un riesgo incrementado de disrupción marital en las personas afectadas con DM, y a su vez al mayor riesgo de este trastorno en aquellos que están divorciados o separados (Bulloch et al., 2009).

### **3.1.5. Nivel educativo**

Numerosos estudios reportan que un mayor nivel educativo está asociado con una menor probabilidad de sufrir DM (Haro et al., 2006; Kessler et al., 1993; Lorant et al., 2003). El efecto protector frente a DM de una mayor educación, sin embargo, se sabe que varía a través de distintos subgrupos poblacionales (Bjelland et al., 2008; Gan et al., 2012). Varios trabajos han examinado si los efectos del nivel educativo en la DM están influenciados por la edad (Bjelland et al., 2008; Schaan, 2014), el sexo (Ross & Mirowsky, 2006), la etnia (Hudson, Neighbors, Geronimus, & Jackson, 2012; Williams et al., 2007), los recursos socioeconómicos en la infancia (Schaan, 2014) y el propio nivel educativo (Bracke, Pattyn, & von dem Knesebeck, 2013). A grandes rasgos, se puede decir que mayores niveles de educación tienen un mayor efecto protector en mujeres que en hombres, en blancos que en negros y en personas que han crecido en familias con recursos socioeconómicos limitados (Bauldry, 2015). Además, este efecto protector parece acumularse a lo largo de la vida (Bjelland et al., 2008). Aunque los años de educación formal están inversamente relacionados con la prevalencia de DM, sin embargo, también existen evidencias que indican que este factor protector de la educación frente a la DM disminuye conforme van aumentando los niveles de educación, en particular para las personas sobreeducadas para su trabajo (Bauldry, 2015; Gan et al., 2012).

Estas observaciones plantean dudas acerca de quiénes se benefician más de un mayor nivel de educación, en términos de una menor prevalencia de DM y un mejor estado de salud en general (Mirowsky & Ross, 2001; Ross & Mirowsky, 2006, 2011). Una hipótesis se centra más en ensalzar las ventajas pre-existentes y plantea que una mayor educación sería más beneficiosa para personas de origen privilegiado. En el caso concreto de la DM, la hipótesis se sostendría si estas personas se beneficiaran de un efecto protector mayor que las personas de origen humilde. Esto podría ser posible ya que es más probable que las personas de origen privilegiado hayan tenido estilos de vida sanos y recursos suficientes para vivir (Cockerham, 2005). Además, esta relación entre un mayor nivel educativo y una menor prevalencia de DM puede deberse a un sentimiento de dominio y autosuficiencia (Ross & Mirowsky, 2011), así como a una mayor probabilidad de lograr carreras y sueldos más satisfactorios, lo que a su vez favorecería estilos de vida sanos y recursos suficientes. A diferencia de la hipótesis anterior, esta otra se centra más en compensar las desventajas pre-existentes, y plantea que el efecto beneficioso de la educación en la salud es mayor para personas con menos recursos. Esto podría deberse a que las personas con menos recursos que no obtienen un título de educación suelen tener peor salida en el mercado de trabajo y, comparativamente, pequeñas ganancias les suponen mayores beneficios que para personas con más recursos en términos psicológicos, económicos, etc. (Brand & Xie, 2010). La mayoría de las evidencias empíricas parecen apoyar esta última hipótesis (Bauldry, 2015).

### **3.1.6. Estatus socioeconómico**

Diversos estudios han encontrado que la DM es más prevalente en los niveles más bajos de estatus socioeconómico. Demuestran que los efectos de una situación económica desventajosa son acumulativos, con un mayor riesgo de tener una salud mental y física pobre entre aquellos que experimentan adversidad económica a lo largo del tiempo (Everson, Maty, Lynch, & Kaplan, 2002; Lorant et al., 2007). Además, en un nivel socioeconómico más bajo los síntomas depresivos son más persistentes (Weich et al., 2002). Confirmando estos hallazgos, en un meta-análisis



del año 2003 (Lorant et al., 2003) se encontró un riesgo incrementado de DM en personas que pertenecían al estrato socioeconómico más bajo en comparación con aquellos pertenecientes al más alto. En general se puede decir que cuanto más pobres sean las condiciones socioeconómicas de una persona, mayor es su riesgo de padecer una enfermedad mental. Entre las posibles explicaciones para dicha correlación entre estatus socioeconómico y enfermedad mental encontramos las condiciones económicas adversas (como la pobreza, el desempleo o el difícil acceso a una vivienda), el estrés económico, solo o combinado con la falta de integridad familiar, etc. De momento, la mediación de esta correlación por el estrés económico es la explicación que está recibiendo más apoyo (Hudson, 2005).

### **3.1.7. Estatus laboral**

Con respecto a la situación laboral, el desempleo se ha asociado de forma consistente con elevadas tasas de DM y con mala salud mental en general (Alonso et al., 2004; Jefferis et al., 2011; McGee & Thompson, 2015). El desempleo puede contribuir a la aparición de DM por medio de la incertidumbre económica, así como la pérdida de estatus, contacto social, estructura horaria y actividades. Sin embargo, la DM también puede predisponer a una situación más incierta en el mercado de trabajo con mayor riesgo de desempleo. La secuencia temporal o de causalidad del inicio de los problemas de salud mental y el desempleo aún no está clara, ya que ambas rutas pueden funcionar (Jefferis et al., 2011).

Hasta el momento, la ruta de causalidad, donde el desempleo conduce hacia una salud mental pobre, ha sido más frecuentemente estudiada que la ruta de la selección de salud, donde la DM conduce al desempleo (Jefferis et al., 2011; McGee & Thompson, 2015). Recientemente, un meta-análisis que contenía 87 estudios longitudinales sugería que la pérdida de trabajo aumentaba el riesgo de tener peor salud mental (Paul & Moser, 2009). También existen algunas evidencias, aunque no consistentes, a favor de que la DM aumenta la probabilidad de una posterior pérdida de trabajo (Jefferis et al., 2011).

### **3.1.8. Urbanicidad**

Vivir en una ciudad está asociado tanto con beneficios como con inconvenientes para la salud. En relación con la salud mental, siempre se ha considerado un factor de riesgo (Heinz, Deserno, & Reininghaus, 2013), ya que la contaminación, el ruido del tráfico, los barrios desfavorecidos, la criminalidad, los pobres lazos sociales, etc. inherente a las ciudades puede influir negativamente en el bienestar mental (Galea, Ahern, Rudenstine, Wallace, & Vlahov, 2005).

Aunque los resultados varían entre países, la urbanicidad o vivir en un entorno urbano se ha asociado a una mayor prevalencia de DM con respecto a las áreas rurales. Sin embargo, es difícil identificar qué características de este ambiente urbano son las que más probablemente se asocian al trastorno (Penkalla & Kohler, 2014).

Como ya se ha comentado en el apartado 2.2. Epidemiología de la depresión, hay una serie de factores psicosociales de riesgo que son causa de grandes variaciones en la prevalencia de la DM. Así, vemos que los estudios apoyan de forma abrumadora la idea de que la prevalencia de DM varía según el género y otros factores sociodemográficos.

## **3.2. Factores ambientales**

### **3.2.1. Adversidad en la infancia o adolescencia**

La adversidad o eventos negativos durante las primeras etapas de la vida (período prenatal, infancia o adolescencia) son considerados factores predisponentes, es decir, aquellos que aún siendo menos próximos al inicio de la depresión, incrementan la vulnerabilidad de las personas frente a la enfermedad. Estos traumas o eventos negativos, como la pérdida de un padre, el descuido o abandono, el abuso sexual, físico o emocional, están ligados a un riesgo incrementado para padecer depresión en la etapa adulta (Fava & Kendler, 2000; Lindert et al., 2014; Saveanu & Nemeroff, 2012). Se reportan tasas de adversidad infantil significativamente mayores en los adultos con DM que en la población

general. La adversidad infantil también se asocia con un peor curso de la DM, incluyendo la falta de respuesta al tratamiento así como episodios más frecuentes y mayor cronicidad (Nanni, Uher, & Danese, 2012).

A pesar de ser un factor de riesgo no específico y estar ligado a problemas emocionales (Agnafors et al., 2013) y trastornos físicos (Scott et al., 2011), la adversidad en las primeras etapas de la vida se ha descrito como uno de los factores de riesgo ambiental más importantes para el desarrollo de diversos tipos de trastornos psiquiátricos en adultos, incluyendo la DM (Kendler, Kuhn, & Prescott, 2004; Kessler, Davis, Kendler, David, & Kendler, 1997; Shapero et al., 2014). Esto es apoyado por el hecho de que suficiente cariño o apego por parte de los padres amortigua los efectos de los eventos vitales negativos (Armsden, McCauley, Greenberg, Burke, & Mitchell, 1990; Deković & Meeus, 1997; Engels, Deković, & Meeus, 2002).

### **3.2.2. Acontecimientos vitales estresantes**

Los acontecimientos vitales negativos o estresantes (AVEs) son considerados factores precipitantes. Estos son aquellas circunstancias que tienen un impacto negativo en el individuo (por ejemplo, el estrés) y que preceden a la depresión justo antes de su inicio, es decir, eventos muy cercanos en el tiempo o inmediatamente responsables del comienzo de la enfermedad. Los AVEs se originan de situaciones familiares, personales y económicas (Brown & Harris, 1978). Normalmente implican situaciones comunes como la pérdida de una relación significativa (duelo, separación), el cambio de situación vital (jubilación, síndrome del "nido vacío", pérdida de trabajo, problemas graves de salud), un asalto, problemas de pareja, etc. (Keller, Neale, & Kendler, 2007; Kendler et al., 1995). La manera en que las diferentes personas lidian con ello varía; algunas parecen enfrentarlo bien mientras que otras derivan en un episodio depresivo (Hammen, 2005; Hosang et al., 2012). Diversos estudios apuntan además a un efecto acumulativo de estos AVEs, es decir, aunque un único evento es suficiente para desencadenar un episodio, a largo plazo el efecto de varios de ellos en el

aumento del riesgo para depresión es mayor que el de uno solo (Kessler, 1997; Suliman et al., 2009).

El grado de exposición a AVEs también puede estar condicionado por los rasgos de personalidad. Debido a la gran cantidad de evidencias encontradas, también se ha propuesto que el hecho de que les sucedan más AVEs a unas personas que a otras no es solo cuestión de mala suerte (Fergusson & Horwood, 1987; Van Os, 2001). Se han encontrado diferencias entre individuos en relación a la tendencia de los mismos a sufrir determinados AVEs, y se ha sugerido que estas diferencias son en parte debidas a factores genéticos (Kendler, Neale, Kessler, Heath, & Lindon, 1993; McGuffin, Katz, Aldrich, & Bebbington, 1988). Si bien es cierto que estos factores genéticos no provocan los AVEs directamente, sí que influyen en los rasgos de personalidad, el ánimo y el uso de sustancias, que a su vez influyen en la probabilidad de experimentar AVEs (Kendler & Karkowski-Shuman, 1997). Por ejemplo, aparte de tener un riesgo incrementado para sufrir DM tras la exposición a AVEs, las personas con elevado neuroticismo tienen más probabilidad de exponerse a ambientes de alto riesgo de AVEs, aumentando con ello también el riesgo de sufrir DM (Van Os, 2001). De igual forma, los factores genéticos también son conocidos por su influencia en el riesgo de DM debido a una diferente sensibilidad hacia los AVEs (Kendler et al., 1995).

Hay fuertes evidencias que apoyan una asociación entre el estrés y la DM, por lo que en la actualidad la ciencia intenta identificar los factores de vulnerabilidad a estrés en la DM, incluyendo los factores genéticos (Hosang, Shiles, Tansey, McGuffin, & Uher, 2014).

### **3.2.3. Apoyo social**

Por otra parte, hay evidencias de que, al igual que existen factores ambientales de riesgo, también existen factores ambientales protectores. El apoyo social, definido como cualquier proceso donde las relaciones sociales estimulan la salud y el bienestar (Cohen, Gotlieb, & Underwood, 2000), es uno de los factores sociales determinantes de salud en la población general. Las personas con déficits de apoyo

social tienen más probabilidad de padecer depresión, y una peor calidad de vida en general (Grav, Hellzèn, Romild, & Stordal, 2012; Ibarra-Rovillard & Kuiper, 2011).

### **3.3. Factores biológicos de riesgo**

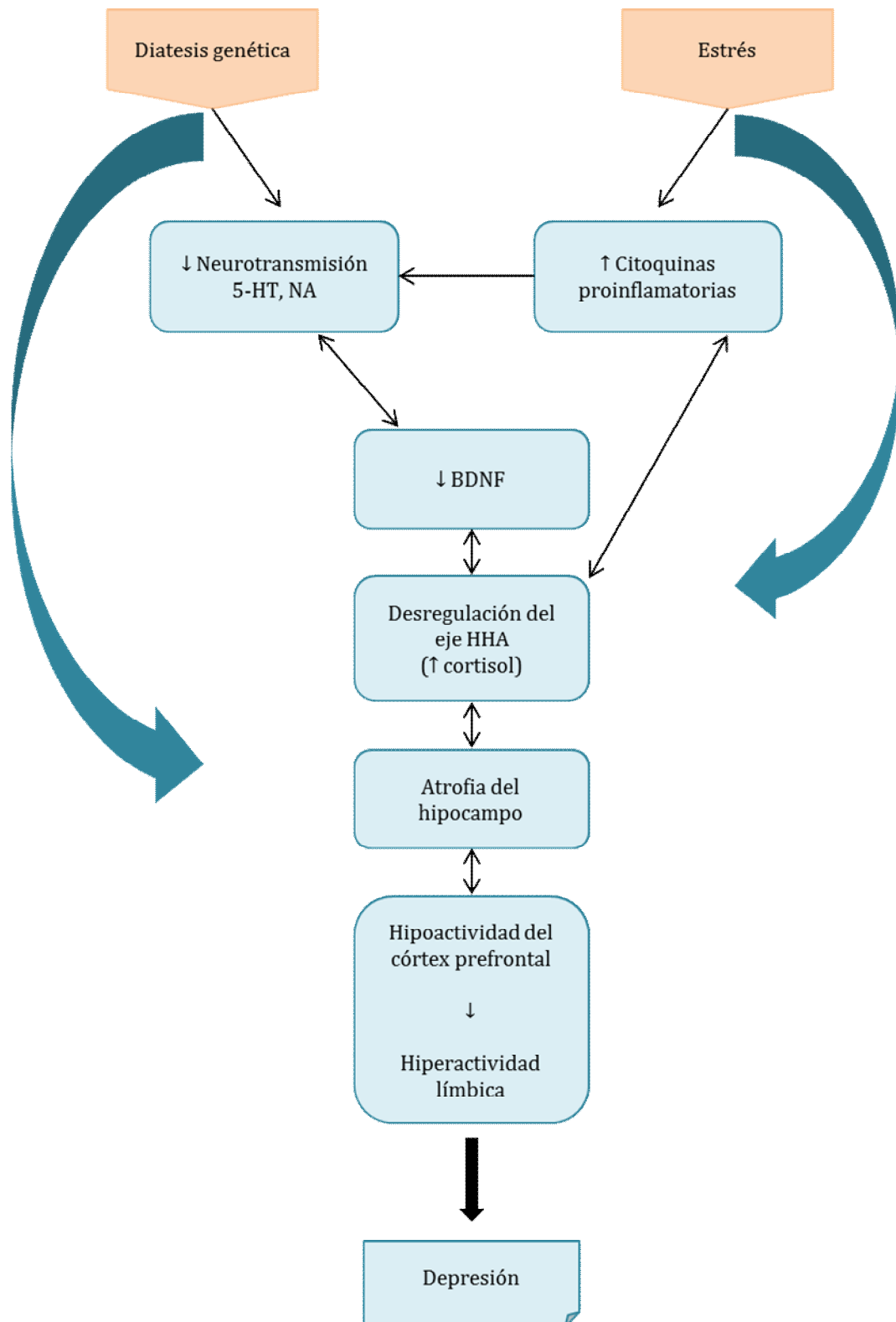
#### **3.3.1. Hipótesis biológicas actuales**

Los estudios de depresión, tanto en humanos como en animales, demuestran que aún hay grandes lagunas en nuestro conocimiento sobre la enfermedad. Así, la idea simplista de que la DM es causada por las alteraciones de un único sistema debe desecharse en favor de una teoría más compleja y con mayores matices que combine el papel de varios sistemas biológicos.

Los hallazgos principales, todos ellos interrelacionados, son: i) neurotransmisión monoaminérgica disminuida (principalmente las monoaminas 5-HT y NA), ii) cambios estructurales y funcionales en el cerebro, iii) desregulación del eje HHA, iv) citoquinas elevadas, v) bajos niveles de factor neurotrófico derivado del cerebro o BDNF y vi) variaciones en genes de susceptibilidad/protección (ver Figura 4).

Las hipótesis abajo descritas son una representación de las distintas perspectivas adoptadas para entender la etiología de la DM.

**Figura 4.** Representación esquemática de la neurobiología de la depresión (adaptado de Palazidou, 2012).



### 3.3.1.1. Hipótesis de la alteración de la neurotransmisión

Hasta el momento, los sistemas cerebrales que han recibido mayor atención en los estudios neurobiológicos sobre DM han sido los sistemas de neurotransmisión monoaminérgicos. Estas rutas monoaminérgicas se proyectan desde los núcleos del mesencéfalo a las áreas límbica y prefrontal, así como al hipocampo, cerca de las estructuras implicadas en el neurocircuito de la depresión (léase córtex prefrontal, amígdala e hipocampo; las estructuras cerebrales más ampliamente estudiadas en relación con la DM). En la tabla 3 se indican los principales cambios que se producen en el área límbica y el córtex prefrontal en un cerebro con depresión.

**Tabla 3.** Cambios funcionales y estructurales en el área límbica y el córtex prefrontal en depresión (adaptado de Palazidou, 2012).

Sustrato	Volumen	Cambios histológicos	Actividad metabólica	Efectos antidepresivos
Córtex prefrontal ventromedial/orbital	↓	↓	↑	
Córtex cingulado anterior	↓			↓ Actividad metabólica
Hipocampo	↓	↓		↑ Volumen
Amígdala	↓?			↓ Actividad metabólica
Córtex prefrontal dorsolateral	↓	↓	↓	

Los sistemas de neurotransmisión monoaminérgicos fueron implicados por primera vez hace alrededor de 50 años gracias a las observaciones del modo de acción de los medicamentos antidepresivos (ADT e ISRS), que actúan aumentando las concentraciones intrasinápticas de neurotransmisores monoamina en el cerebro (en especial 5-HT y NA) (Nutt, 2002). En consecuencia, la conocida ‘hipótesis monoaminérgica de la depresión’ defiende que la DM está causada por una deficiencia de neurotransmisores de tipo monoamina en el cerebro, y que los antidepresivos lo que hacen es restaurar los niveles de los mismos a la normalidad (Palazidou, 2012).

Sin embargo, los efectos clínicos de los antidepresivos se observan después de una administración crónica, de días a semanas, lo que parece indicar que es una cascada de efectos aguas abajo la verdadera responsable de los efectos terapéuticos. Esta reflexión nos conduce a pensar que una neurotransmisión monoaminérgica alterada no es suficiente para explicar la patofisiología de la DM (Hirschfeld, 2000; Manji, Drevets, & Charney, 2001).

En este sentido, existen otros sistemas de neurotransmisión que también podrían estar implicados aunque su contribución haya sido más cuestionada. Es el caso del ácido  $\gamma$ -aminobutírico o GABA y la transmisión GABAérgica. A continuación describimos un poco más en detalle cada uno de los sistemas de neurotransmisión nombrados.

### **Serotonina**

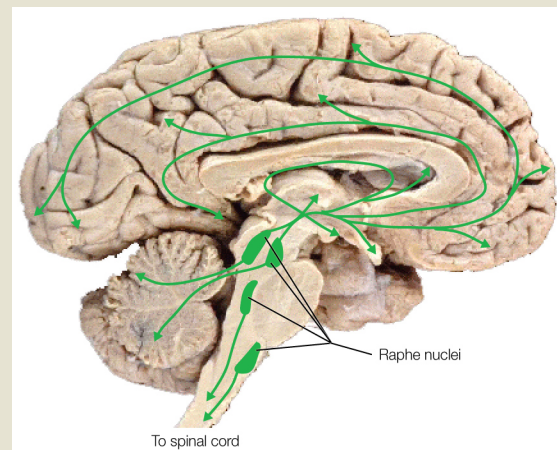
La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es una monoamina neurotransmisora que principalmente se encuentra en el tracto gastrointestinal (cerca del 90%), las plaquetas y el cerebro (Berger, Gray, & Roth, 2009). La 5-HT modula el procesamiento neuronal de importantes funciones vegetativas y emocionales como el ánimo, el apetito, el deseo y la función sexual y el sueño (Canli & Lesch, 2007), así como funciones ejecutivas y la memoria (Puig & Gullledge, 2011). En el Box 1 encontramos más información sobre los circuitos de la 5-HT en el cerebro.

La 5-HT se sintetiza a partir del aminoácido triptófano tal como se ve en la Figura 5. La reacción mediada por la enzima triptófano hidroxilasa (TPH) es una etapa limitante en la biosíntesis. La TPH tiene dos isoformas, la TPH1, encontrada en varios tejidos, y la TPH2, específica de cerebro. Existen evidencias de que determinados polimorfismos genéticos en genes que codifican para estas enzimas influyen en la susceptibilidad a la ansiedad y la depresión (Chaouloff, Berton, & Mormède, 1999). La 5-HT es eliminada activamente del espacio extracelular gracias a la proteína transmembrana transportadora de 5-HT, o más ampliamente conocido como transportador de serotonina (5-HTT o SERT) seguida de la degradación intracelular llevada a cabo por la monoamino oxidasa tipo A (MAOA) (Youdim & Bakhle, 2006).



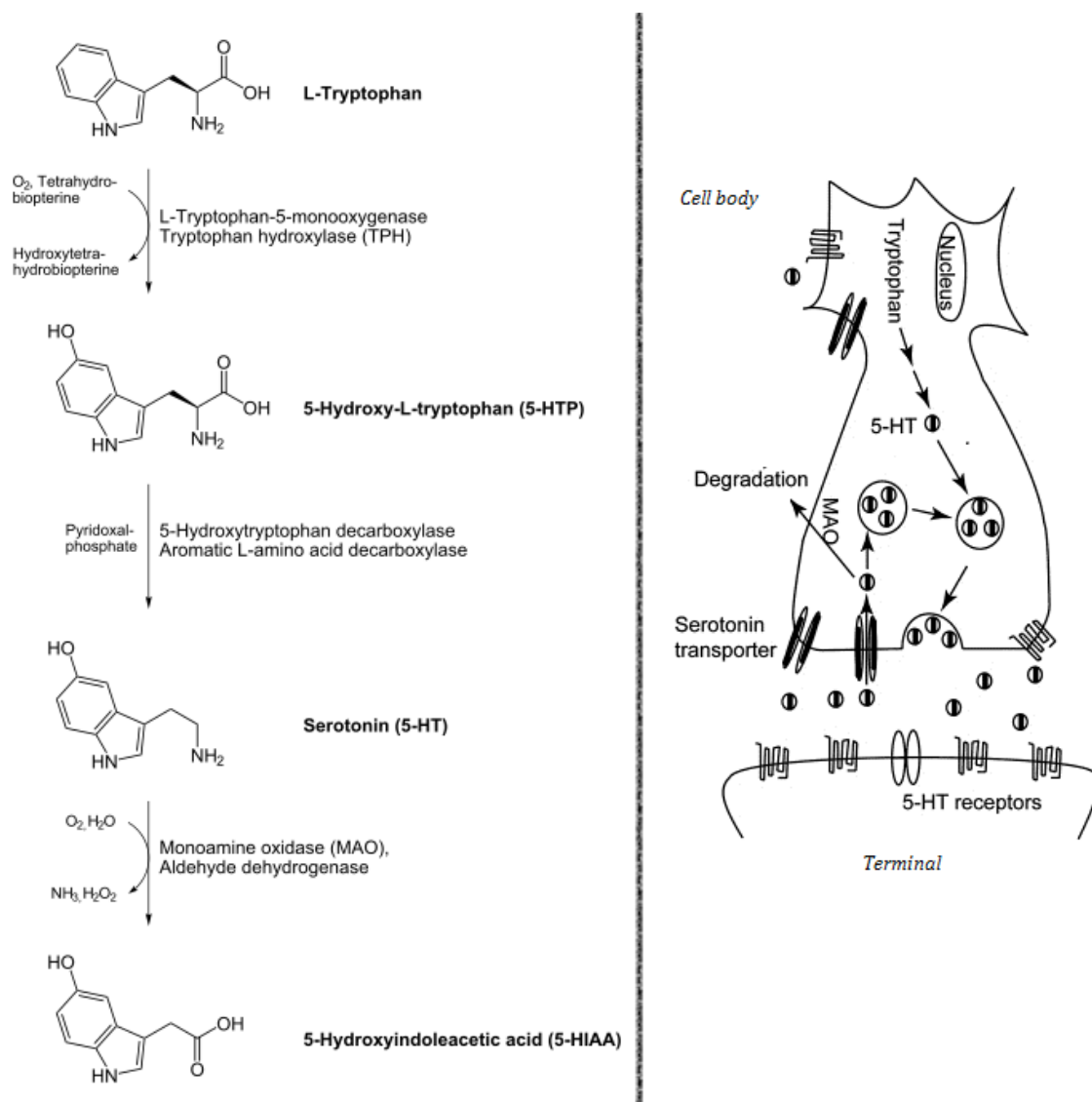
**Box 1. Circuitos de la serotonina.**

El sistema serotoninérgico es el sistema de neurotransmisión más grande del cerebro. Está constituido por un conjunto de núcleos en la línea media del cerebro (núcleos del rafe) que contienen neuronas en su gran mayoría serotoninérgicas, que sintetizan 5-HT. Estas neuronas de los núcleos del rafe son la fuente principal de liberación de 5-HT. Las proyecciones de las neuronas serotoninérgicas forman uno de los sistemas anatómicos y funcionales más complejos y extensos del cerebro de los mamíferos (Jacobs & Azmitia, 1992). Así, la activación de este sistema produce efectos en varias áreas del cerebro. La liberación de 5-HT suele desencadenarse en respuesta a estímulos externos como por ejemplo el estrés, tanto físico como mental (Adell, Casanovas, & Artigas, 1997). Además de su función como molécula neurotransmisora, la 5-HT también participa en el mantenimiento de la integridad estructural de las neuronas (Duman, 2004). Cuando las fibras serotoninérgicas de algún área del cerebro son eliminadas, tanto su estructura como su función quedan comprometidas. La pérdida de 5-HT en el cerebro puede modificar la adaptabilidad y estabilidad del tejido neuronal para responder adecuadamente frente a estímulos externos. La pérdida de la homeostasis neuronal podría estar implicada en el origen de los trastornos mentales (Azmitia, 1999).



Mientras que el transportador de serotonina en las neuronas presinápticas tiene acciones de finalización, los receptores de 5-HT que se encuentran en las neuronas postsinápticas inician una cascada intracelular en su mayoría asociada a proteínas G que puede conducir a una respuesta neural inhibitoria o excitadora (Delgado & Moreno, 2006). De momento son 7 las familias de receptores de 5-HT que han sido caracterizadas, y en ellas encontramos diferentes subtipos de receptores (Nichols & Nichols, 2008). En el contexto de la investigación sobre DM, se ha hecho especial hincapié en el receptor 5-HT<sub>1A</sub> por ser considerado el mediador de la acción farmacológica antidepresiva (Bortolozzi et al., 2012). Asimismo, el SERT también merece especial atención, tanto por su implicación y relevancia en la fisiopatología de los trastornos afectivos como por ser objeto central de la presente tesis doctoral. Será descrito con más detalle en el apartado 3.3.2.2. Estudios de ligamiento y asociación genética.

**Figura 5.** Biosíntesis de la serotonina y representación de una neurotransmisión serotoninérgica.



En general, se considera que los efectos serotoninérgicos están en consonancia con la ‘hipótesis monoaminérgica’ que postula una falta de monoaminas sinápticas en la DM (Hirschfeld, 2000; Nutt, 2002; Ruhé, Mason, & Schene, 2007). Este modelo se ve respaldado por gran cantidad de datos a favor de una hipoactividad serotoninérgica:

- Los antidepresivos, en especial los ADTs e ISRS, actualmente la primera línea de tratamiento para DM, son clínicamente eficaces reduciendo los síntomas de la enfermedad. Muchos de los antidepresivos producen un

aumento de la neurotransmisión serotoninérgica impidiendo la recaptación o metabolismo de la 5-HT (Kupfer, Frank, & Phillips, 2012). Estudios animales sobre el tema revelan que la administración crónica de un tratamiento antidepresivo efectivo conlleva una mejora en la transmisión de la 5-HT (Stockmeier, 2003).

- Se ha encontrado una disminución del principal metabolito de la serotonina (5-HIAA, ácido 5-hidroxi-indol-acético) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en pacientes deprimidos con una historia de serio comportamiento suicida o con otras conductas impulsivo/agresivas, y también en pacientes deprimidos no suicidas (Placidi et al., 2001). Además, se observa una menor captación de 5-HT y disminución de los sitios de unión del transportador en el cerebro y las plaquetas en pacientes deprimidos, así como una disminución de 5-HT y 5-HIAA en los cerebros de pacientes deprimidos que se suicidaron (Stockmeier, 2003).
- Se ha detectado una disminución de la concentración plasmática de triptófano (aminoácido esencial, precursor de la 5-HT) en algunos pacientes depresivos; se ha comprobado también que la depleción de triptófano empeora el estado de ánimo de pacientes depresivos, llegando incluso a recurrir la enfermedad en pacientes en remisión y libres de medicación (Stockmeier, 2003).
- Se ha observado una disminución de las respuestas neuroendocrinas frente a estímulos serotoninérgicos, y cambios en la densidad de receptores en el PFC en depresión y suicidio (Mann, 1999; Owens & Nemeroff, 1994).

A pesar de estos no del todo concluyentes hallazgos, como se ha comentado previamente, ni los efectos terapéuticos retrasados de los antidepresivos (Bartova, Berger, & Pezawas, 2010) ni la eficacia de los tratamientos no farmacológicos (terapia cognitivo-conductual, TEC,...) se explican con esta hipótesis monoaminérgica (Castrén, 2005).

### **Noradrenalina**

La noradrenalina (NA) es una monoamina del grupo de las catecolaminas que principalmente cumple funciones fisiológicas y homeostáticas pudiendo actuar como hormona o como neurotransmisor (en el sistema nervioso central, SNC, o en el simpático, SNS). Sus acciones se llevan a cabo a través de la unión a receptores adrenérgicos de las neuronas noradrenérgicas. Estas, al ser activadas, ejercen sus efectos en grandes áreas del cerebro implicadas en la atención, el despertar y el sistema de recompensas.

En el SNS, la NA es liberada de las neuronas simpáticas afectando al corazón; por ejemplo, un incremento en los niveles de NA del sistema nervioso simpático acelera el ritmo de las contracciones. Como hormona implicada en el estrés, afecta a partes del cerebro como la amígdala, donde se controla la atención y otras respuestas. Junto con la adrenalina, la NA también está involucrada en la reacción de lucha o huida (Delgado & Moreno, 2006; Ressler & Nemeroff, 2000).

Al igual que en el caso del sistema de neurotransmisión de la 5-HT, la función noradrenérgica también parece estar disminuida en personas con depresión (Nestler et al., 2002; Ressler & Nemeroff, 2000). Existen algunos datos a favor de una hipoactividad noradrenérgica:

- Algunos antidepresivos actúan de forma casi exclusiva sobre la NA mejorando de este modo los síntomas depresivos (Desipramina, Reboxetina).
- Se han encontrado bajos niveles de tirosina hidroxilasa (la enzima limitante de la síntesis de NA) en cerebros de pacientes suicidas (Biegon & Fieldust, 1992).
- Los niveles del principal metabolito de la NA (MPHG, metoxihidroxifenilglicol) en orina pueden encontrarse bajos en los episodios depresivos (Conte, Vita, & Sacchetti, 1988; Schildkraut, 1974).

### **Ácido $\gamma$ -aminobutírico (GABA)**

El ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) es el neurotransmisor principal en el SNC de los mamíferos. Principalmente interviene en la reducción de la excitabilidad neuronal a lo largo del sistema nervioso, y en la especie humana es directamente responsable de la regulación del tono muscular. Se produce en el SNC a través de la descarboxilación del glutamato en una reacción catalizada por el enzima ácido glutámico descarboxilasa (GAD) que se da mayoritariamente en las neuronas (Kalueff & Nutt, 2007; Möhler, 2012).

Como en los casos anteriores, se sugiere que la desregulación del neurotransmisor inhibitor GABA está implicado en la etiología de la DM, más específicamente, que la DM está relacionada con una reducción en la neurotransmisión inhibitoria mediada por GABA. Desde hace más de 30 años se han observado evidencias de concentraciones disminuidas de GABA en el cerebro de pacientes con DM, idea que ha ido ganando cada vez más apoyo con los datos obtenidos gracias a la resonancia magnética por espectroscopía (Pehrson & Sanchez, 2015).

La transmisión GABAérgica es crucial para el control del estrés y se ve disminuida ante la exposición crónica al estrés, uno de los factores de vulnerabilidad más importantes en la DM. Los antidepresivos actuales, que incrementan la transmisión monoaminérgica, en última instancia modulan la transmisión GABAérgica desregulada produciéndose así los efectos terapéuticos antidepresivos (Kalueff & Nutt, 2007; Pehrson & Sanchez, 2015). Además, pequeños déficits en la transmisión GABAérgica son suficientes para causar la mayoría de las secuelas celulares, de comportamiento, cognitivas y farmacológicas esperadas en un modelo animal de DM (Luscher, Fuchs, & Kilpatrick, 2011).

#### **3.3.1.2. Hipótesis neuroendocrina**

Es frecuente una asociación entre los trastornos afectivos y algunas enfermedades endocrinas, como el síndrome de Cushing, así como con los tratamientos con corticoides (Fava et al., 2006; Sonino & Fava, 1998).

Por otro lado, gran cantidad de evidencias epidemiológicas apoyan la implicación del estrés como un factor de vulnerabilidad en los trastornos del ánimo y en especial en la DM (Charney & Manji, 2004; Kendler, Karkowski, & Prescott, 1999) . Dos observaciones centrales, la importancia de los AVEs como desencadenantes de DM y las alteraciones en el eje HHA, plantean el papel del estrés en la DM.

La DM se ha asociado con una hiperactividad del eje HHA (Plotsky, Owens, & Nemeroff, 1998), pero la disfunción de dicho eje, aunque bien establecida en relación con los trastornos del estado de ánimo, no es universal (Heuser et al., 1994). No es raro encontrar hipercortisolismo en los pacientes deprimidos, siendo el test de supresión con dexametasona (TSD) en dosis única nocturna negativo en cerca del 50% de los casos. Estos niveles elevados de cortisol basal junto con una sobrerrespuesta frente a estresores psicológicos sugieren anomalías en el sistema de retroalimentación negativo del eje y una mala regulación de la síntesis de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) a nivel hipotalámico (Binder & Nemeroff, 2010; Palazidou, 2012). La desregulación de este eje puede ser responsable de las anomalías que se encuentran en el hipocampo o el PFC en pacientes deprimidos. Los niveles elevados de cortisol circulante activan los receptores del cerebro estimulando la transcripción génica y la síntesis de proteínas. Aunque a primera vista y a corto plazo pueda parecer beneficioso, ya que permite al cerebro lidiar con pequeñas cantidades de estrés, una hipercortisolemia en situaciones de estrés crónico puede causar daño neuronal (Palazidou, 2012; Sapolsky, Uno, Rebert, & Finch, 1990).

Sin embargo, estas alteraciones son poco específicas, pudiendo localizarse también en pacientes con trastornos obsesivos, anorexia nerviosa o trastorno límite de la personalidad (Erbay & Kartalci, 2015; Gold et al., 1986; Lieb et al., 2004).

Con respecto al eje tiroideo, se observa que cerca del 33% de los pacientes con DM presentan una disminución de la respuesta de la hormona estimulante del tiroides o tirotropina (TSH) a hormona liberadora de tirotropina (TRH), siendo la

función tiroidea normal. De nuevo, la especificidad de estos hallazgos en relación a la DM es baja (Pilhatsch, Marxen, Winter, Smolka, & Bauer, 2011).

### 3.3.1.3. Hipótesis inmunológica

Hallazgos encontrados en estudios preclínicos y clínicos sugieren que también hay mecanismos inmunológicos implicados en la compleja etiología de las enfermedades mentales, en particular de la DM. Aunque es bastante improbable que la DM sea un trastorno inflamatorio primario, sí que existen evidencias que sugieren una implicación de los procesos inflamatorios en la patofisiología de la enfermedad. La mayoría de las evidencias a favor de una relación entre la inflamación y la DM provienen de tres observaciones: i) niveles elevados de marcadores inflamatorios periféricos en un tercio de las personas con DM, incluso en ausencia de una enfermedad médica, ii) co-ocurrencia de DM con enfermedades inflamatorias y iii) mayor riesgo de desarrollar DM en pacientes tratados con citoquinas (moléculas de señalización del sistema inmunológico) (Krishnadas & Cavanagh, 2012; A. Patel, 2013).

Se ha visto que las citoquinas proinflamatorias actúan modulando casi cualquier sistema implicado en la etiopatogénesis de la DM incluyendo alteraciones en los sistemas de neurotransmisión, la función neuroendocrina, la plasticidad sináptica, etc. Las semejanzas entre el *sickness behaviour* (principalmente fatiga y letargia) inducido por citoquinas proinflamatorias y la DM también apoyan el papel de la inflamación en la enfermedad, así como los efectos antiinflamatorios del tratamiento antidepresivo (Palazidou, 2012; Zunszain, Horowitz, Cattaneo, Lupi, & Pariante, 2013). Puede que la inflamación no juegue solo el papel de factor precipitante que empuja a la persona a padecer la enfermedad, sino que también actúe como factor perpetuador que obstaculiza la recuperación. Si se continúan investigando estos hallazgos, puede que los marcadores inflamatorios pudieran servirnos en el diagnóstico y predicción de la respuesta al tratamiento (Krishnadas & Cavanagh, 2012).

### **3.3.1.4. Hipótesis neurotrófica**

Como complemento a la hipótesis neuroendocrina, con el estrés como actor principal, estudios moleculares y celulares han mostrado acciones contrapuestas del estrés y el tratamiento antidepresivo en la expresión de factores neurotróficos en las estructuras límbicas del cerebro. Destaca en particular el BDNF, el factor de crecimiento presente con mayor prevalencia en el SNC. Es esencial para el desarrollo de este sistema, así como para la plasticidad neuronal. Dado su papel capital en el desarrollo y plasticidad del cerebro, este factor neurotrófico ha sido ampliamente estudiado e implicado en las enfermedades mentales, y en particular en DM (Autry & Monteggia, 2012; Castrén, Vöikar, & Rantamäki, 2007; Karege et al., 2002). Descifrar sus acciones en el cerebro ha ayudado a aunar los más importantes hallazgos provenientes de estudios de neuroimagen, anomalías en el eje HHA, la función de los sistemas de neurotransmisores y los efectos de los fármacos antidepresivos (Palazidou, 2012).

El hipocampo es rico en BDNF, factor implicado en el crecimiento, supervivencia y maduración neuronal, así como en la arborización y plasticidad sináptica del cerebro adulto. Existen evidencias que demuestran que la expresión de BDNF se reduce en el hipocampo y otras regiones límbicas como respuesta al estrés (Martinowich, Manji, & Lu, 2007). Estos niveles más bajos de BDNF como respuesta al estrés se encuentran tanto en roedores (Calabrese et al., 2015) como en humanos (Grassi-Oliveira, Stein, Lopes, Teixeira, & Bauer, 2008). Mientras, el tratamiento antidepresivo afecta a los niveles de BDNF de forma contraria a cómo lo hace el estrés o la depresión (Castrén & Rantamäki, 2010). Los pacientes deprimidos tienen bajos niveles de BDNF en suero que incrementan con el tratamiento con antidepresivos o TEC (Molendijk et al., 2014). Estos cambios también se han encontrado a nivel cerebral (Shimizu et al., 2003).

Dado que la expresión de BDNF disminuye por el estrés y la DM, y es aumentada por los antidepresivos y está normalizada en pacientes con DM medicados con antidepresivos, muchas investigaciones se han centrado en el BDNF como un biomarcador y también como un posible objetivo para el tratamiento de la DM (Autry & Monteggia, 2012).



### 3.3.2. Bases genéticas de la depresión

Muchos trastornos psiquiátricos como la esquizofrenia, el trastorno bipolar o el autismo, son altamente heredables, y otros como la depresión lo son de forma moderada. Aunque la identificación de los factores genéticos subyacentes y la definición del papel fisiopatológico de las variaciones moleculares se hayan visto obstaculizadas por la falta de replicación de muchos de los resultados, se sigue confiando en la Genética como humilde candidata para tratar de dilucidar parte del enigma (Sullivan, Daly, & O'Donovan, 2012). Pero, como Kendler y Eaves comentaron hace más de veinte años en uno de sus artículos: "Creemos que un completo entendimiento de la etiología de la mayoría de los trastornos psiquiátricos requerirá la comprensión de los factores de riesgo genéticos relevantes, de los factores de riesgo ambientales relevantes, y las formas en que ambos factores de riesgo interaccionan" (Kendler, Neale, Kessler, Heath, & Eaves, 1993).

Un gran atractivo de la aproximación genética, aparte de que ha dado buenos resultados y se encuentra bien establecida en otros campos de la medicina, es que permite acceso indirecto a procesos que de otra forma serían difíciles de estudiar en personas vivas. Así, una vez identificados los cambios en el ADN, se permite la posibilidad de inferir las anomalías fisiológicas que conducen a la enfermedad.

Como sabemos, la DM es una enfermedad compleja en la que tanto factores genéticos como ambientales se ven implicados en su origen (Levinson, 2006). A pesar de su prevalencia y la enorme carga que esta enfermedad supone para nuestros sistemas de salud, los tratamientos se dirigen en su mayoría a aliviar los síntomas. La identificación de los factores genéticos subyacentes podría aportar nuevas herramientas para mejorar el cuidado de los pacientes, el diagnóstico y la prognosis. Con esto, y gracias a la predicción del comportamiento de la enfermedad y la identificación de los casos más severos, se posibilitaría una mejor prevención y el desarrollo de nuevas estrategias farmacogenéticas. Estas estrategias permitirían identificar variantes genéticas que controlen la eficacia y reacciones adversas ante los medicamentos, así como nuevas dianas terapéuticas (Flint & Kendler, 2014).

Sin embargo, a pesar de los esfuerzos que se están llevando a cabo, encontrar genes para DM no ha sido tan exitoso como para otras enfermedades médicas comunes (Hindorff et al., 2009).

### **¿Por qué algunas personas desarrollan enfermedades mentales y otras no?**

Como comentó Jeffrey Friedman al recibir el premio Fundación BBVA Fronteras del Conocimiento en Biomedicina, en su caso refiriéndose a la obesidad, hemos de mirar la enfermedad mental no como un fracaso personal sino como una diferencia biológica (Friedman, 2013).

Según el Diccionario de la Lengua Española, 'diferencia' es: cualidad o accidente por el cual algo se distingue de otra cosa; variedad entre cosas de una misma especie (Real Academia Española, 2014). Es en estas diferencias en las que hemos de centrar nuestros esfuerzos.

La idea de heredabilidad en las enfermedades mentales ha estado rondando desde los comienzos de la psiquiatría, pero fue a finales del siglo XIX, tras los trabajos de Henry Maudsley, Sir Francis Galton y Emil Kraepelin entre otros, cuando esa base hereditaria fue realmente reconocida (Baca, 2004; Burmeister et al., 2008). En base a estudios de agregación familiar y de gemelos, se ha puesto de manifiesto que la mayoría de trastornos mentales graves tienen una alta heredabilidad, que oscila entre el 40 y el 80% dependiendo del diagnóstico. De hecho, estos valores de heredabilidad son más elevados que los estimados para otras enfermedades donde los factores genéticos de riesgo están ya muy bien asentados (Thomas, 2010). Nos referimos por ejemplo al cáncer de mama, cuya heredabilidad se encuentra entre un 5 y un 60% y al Parkinson, con heredabilidad entre un 13 y un 30% (Burmeister et al., 2008).

Sin embargo, en la mayoría de los casos se desconocen en gran medida las causas que subyacen a las enfermedades mentales, carecen de patrones hereditarios claros, y se clasifican como enfermedades genéticamente complejas; que en última instancia son enfermedades que no obedecen un patrón de herencia mendeliano y están determinadas por numerosos factores genéticos

(heterogeneidad de *locus*) y ambientales trabajando juntos (Chial, 2008; Craig, 2008; Lobo, 2008; Ralston, 2008).

Además de carecer de homogeneidad en su etiología por tratarse de enfermedades complejas, los trastornos psiquiátricos también carecen de fenotipos bien definidos o estables (debido a penetrancia incompleta, interacción con factores no genéticos y/o rasgos no bien especificados). Por eso los diagnósticos representan definiciones operacionales más que entidades bien definidas (Merikangas & Swendsen, 1997) con pruebas diagnósticas de validación (tests bioquímicos, radiológicos, fisiológicos, genéticos). Todo ello dificulta y retrasa los estudios de identificación de los factores causantes de la enfermedad mental.

A pesar de los considerables esfuerzos que se han hecho hasta la fecha, la investigación en el campo de la psiquiatría genética no ha logrado aún servir de mucha ayuda en mitigar el sufrimiento de aquellos que padecen trastornos mentales. Sin embargo, el progreso sin precedentes de los últimos años y el vertiginoso desarrollo de las tecnologías del ADN parecen disolver cualquier atisbo de duda entre la comunidad científica (Krishnan, 2005; Sullivan et al., 2012). Paso a paso, sin grandes revoluciones, estos y futuros avances mejorarán el conocimiento existente sobre la etiología de las enfermedades mentales (Stoltenberg & Burmeister, 2000).

Pero... ¿qué nos conduce a pensar que existe un componente genético en la etiología de una enfermedad?

### **3.3.2.1. Estudios de familia, gemelos y adopción**

La investigación en genética en general, y en genética psiquiátrica en particular, se sirve de distintos métodos para alcanzar sus objetivos, que al igual que la metodología, han ido variando con el tiempo.

Los primeros estudios realizados presentan la premisa fundamental de que un trastorno es causado por factores genéticos, de modo que los individuos que están

genéticamente relacionados debieran compartir riesgos parecidos para el trastorno (Shih, Belmonte, & Zandi, 2004).

Los estudios familiares, de gemelos y de adopción han proporcionado evidencias sobre el papel de la genética en numerosos trastornos psiquiátricos como la esquizofrenia, el trastorno bipolar, la DM o la enfermedad de Alzheimer (Anguelova, Benkelfat, & Turecki, 2003; Sanders et al., 2008; Shih et al., 2004). Demostrar que un comportamiento se agrega en familias, a través de estos estudios, es el primer paso para establecer la existencia de una base genética en una enfermedad (Dick, 2011; Shih et al., 2004), sin embargo, se trata de una condición necesaria pero no suficiente para la heredabilidad ya que la similitud entre familiares puede ser debida no solo a genes compartidos sino también a un mismo entorno (Cervilla & García-Ribera, 2000; Shih et al., 2004).

A pesar de que cada aproximación goza tanto de puntos fuertes como de limitaciones, a lo largo de la historia se ha continuado progresando y arrojando nueva luz para el esclarecimiento de las causas que subyacen a los trastornos mentales (Merikangas & Swendsen, 1997).

### ***Estudios de familia***

En este tipo de estudios se compara la frecuencia con la que aparece un determinado trastorno en la familia del individuo afectado, respecto a la frecuencia encontrada para el mismo carácter en la población general. En el caso de existir una base genética para la enfermedad, la prevalencia entre los familiares de los individuos afectados será mayor que en la población general.

Los estudios de familia pueden determinar familiaridad, no obstante, no pueden discriminar si la agregación dentro de las familias se debe a causas genéticas o ambientales, generalmente compartidas entre familiares (Cervilla & García-Ribera, 2000; Dick, 2011). A pesar de que esto supone la limitación más destacable de estos estudios, conservan su importancia como punto de partida de la epidemiología genética.

En el caso de la DM, los estudios que muestran que esta enfermedad se agrega en familias datan de comienzos del siglo XX (Tsuang & Faraone, 1990). En el año

2000, Sullivan et al. realizaron un metaanálisis que contenía los seis estudios de familia de mayor calidad llevados a cabo hasta el momento. Gracias a él se estima un riesgo incrementado para sufrir DM que es 2.84 veces mayor en parientes de primer grado de probandos con DM (Sullivan, Neale, & Kendler, 2000). La heredabilidad estimada para DM fue del 37% (intervalo de confianza del 95%; IC 95% 31-42). En el Box 2 se muestran los principales hallazgos alcanzados gracias a este tipo de estudios (Byrne, Agerbo, & Mortensen, 2002).

Además, los estudios de familia suponen un potente método para identificar interacción gen-ambiente (GxE), como demuestran, por ejemplo, los estudios de Cannon et al. de los años 1990 y 1993, en los que se comparaban niños de alto riesgo (padres con psicopatología) con individuos controles de bajo riesgo. En el primer estudio, la crianza institucional se asoció con un riesgo elevado de esquizofrenia solo entre aquellos niños con predisposición genética (Cannon, Mednick, & Parnas, 1990). En el segundo se reevaluó el riesgo genético por tener uno o ambos padres afectados, y se vio una interacción significativa entre el grado de riesgo genético y complicaciones en el nacimiento en la predicción de un aumento del ventrículo: mayor aumento en los sujetos con un padre afectado respecto a los individuos control, y un todavía mayor aumento en aquellos con dos padres afectados (Cannon et al., 1993). Esta utilidad de los estudios familiares no está muy extendida debido a su coste económico (examen de los sujetos durante un largo periodo de tiempo), y también al elevado número de individuos de alto riesgo necesarios en la muestra para poder contar después con suficientes afectados (baja tasa de los trastornos mentales en general) (Dick, 2011).

### ***Estudios de gemelos***

En estos estudios se comparan las tasas de concordancia para un determinado trastorno en gemelos monozigóticos (MZ; comparten todos sus genes) respecto a las tasas en gemelos dizigóticos (DZ; comparten de media solo la mitad de sus genes). Ambos tipos de gemelos comparten también un mismo entorno, lo que permite estimar la contribución relativa de genes y ambiente en la etiología de la enfermedad. Así, comparando las concordancias entre los diferentes tipos de

gemelos, podemos estimar la heredabilidad (Griffiths, Gelbart, Miller, & Lewontin, 2000).

Los estudios clásicos implicaban comparaciones de gemelos monozigóticos y dizigóticos criados juntos, pero también han sido y son importantes como método para estudiar la interacción GxE, por ejemplo, analizando gemelos MZ que se han criado aparte (van Dongen, Slagboom, Draisma, Martin, & Boomsma, 2012). Esto presta la posibilidad única de estudiar la influencia de diferentes ambientes en un genotipo idéntico.

En el Box 2 se muestran los principales hallazgos derivados de los estudios de gemelos. Un estudio particularmente grande sobre DM en gemelos estimó la heredabilidad de la enfermedad en torno al 38% (Kendler, Gatz, Gardner, & Pedersen, 2006a). Además, este tipo de estudios se hicieron eco de la mayor prevalencia de DM en mujeres, y por ello los investigadores quisieron averiguar si la heredabilidad de la enfermedad variaba según el sexo, y si los mismos factores genéticos influían en el riesgo para DM en hombres y en mujeres. Los dos estudios principales sobre el tema (Kendler, Gardner, & Prescott, 2001; Kendler et al., 2006a) alcanzaron resultados similares: heredabilidad considerablemente mayor en mujeres que en hombres, y efectos genéticos específicos de sexo. Aún así, gran cantidad de factores genéticos de riesgo para DM parecen ser compartidos entre hombre y mujeres.

### ***Estudios de adopción***

El objetivo de este tipo de estudios es discernir los factores etiológicos que son de naturaleza genética de los que no lo son. Para ello se compara el riesgo mórbido de los familiares biológicos y de los adoptivos de individuos enfermos que fueron adoptados de niños. Si los genes desempeñan un papel determinante, la transmisión se detectará en la familia biológica y no en la adoptiva. Esto es así porque los niños adoptados a muy temprana edad comparten ambiente con su familia adoptiva pero tienen lazos genéticos con su familia biológica (Griffiths et al., 2000).

De forma análoga al resto de estudios de genética clásica comentados previamente, estos estudios también suponen un gran método para detectar interacciones gen-ambiente. No obstante, también poseen algunas limitaciones, por ejemplo: los padres biológicos y adoptivos de hijos adoptados no suelen ser representativos de la población general, de forma que se limita la extrapolación de los resultados (Kendler, Neale, Kessler, Heath, & Eaves, 1993); la capacidad de separar factores genéticos y ambientales depende de la edad en que se produzca la adopción, e incluso así, siempre habrá tenido lugar un contacto pre y perinatal con los padres biológicos.

En el Box 2 se pueden observar los hallazgos principales obtenidos a través de estudios de adopción, aunque en la DM no son concluyentes al no existir estudios de adopción de buena calidad.

En resumen, podemos decir que las investigaciones han mostrado de forma consistente que la DM se agrega en familias. Los datos procedentes de los estudios de familia y de gemelos sugieren una contribución significativa de los factores genéticos al riesgo para desarrollar DM, con un riesgo para sufrir la enfermedad incrementado entre familiares de primer grado unas 2.8 veces, y estimaciones de la heredabilidad media que van desde el 31% al 42%, aunque ciertos subtipos de la DM pueden ser más hereditarios que otros (Lee et al., 2013; Sullivan et al., 2000).

## Box 2. Principales hallazgos de estudios de genética clásica en la depresión.

### Depresión mayor (DM)

**Definición** Más que tristeza, estado de ánimo severamente deprimido, pérdida de interés y placer por las actividades diarias, falta de energía, sentimientos de inutilidad, culpa y pensamientos pesimistas.

### Principales hallazgos

#### *Estudios familiares*

- Riesgo mórbido incrementado del 15%-25% para DM en familiares de individuos afectados.
- Descrito efecto de la edad de inicio de la enfermedad y el n° de episodios depresivos en agregación familiar. Riesgo incrementado para DM en familiares de individuos afectados entre un 3.4%, cuando edad de inicio de enfermedad tardía y n° episodios bajo, y un 17.4% en familiares de pacientes con forma recurrente de la enfermedad que empezó a edad temprana. Parece que la aparición temprana de la enfermedad y la presencia de múltiples episodios depresivos incrementan la agregación familiar.
- Riesgo relativo entre 1.5 y 3 veces superior en familiares de 1er grado de individuos afectados de DM comparado con la población general.
- Afecta a mujeres el doble que a hombres.

#### *Estudios de gemelos*

- Concordancia = MZ: 46%; DZ: 20%
- Hay estudios tanto a favor como en contra de una posible influencia del sexo y la edad de inicio de la enfermedad en la heredabilidad de la misma.

#### *Estudios de adopción*

- Resultados no concluyentes, aunque parecen apoyar la importancia de factores genéticos, sobre todo en las formas más graves de depresión.

Comorbilidad con trastornos relacionados con sustancias.

**Heredabilidad media** ≈ 40%

### 3.3.2.2. Estudios de ligamiento y asociación genética

Con el paso de los años, gracias a la aparición de nuevas tecnologías y avances en el conocimiento, otras técnicas se han ido abriendo camino entre las ya existentes; surgen nuevos métodos que suplen, o al menos lo intentan, carencias previas. Una vez establecida la existencia de una base genética en los trastornos mentales principales, y teniendo la biología molecular de nuestro lado, es momento de tratar de identificar los genes responsables. Se da paso a una serie de estrategias diferentes: i) Análisis de ligamiento y análisis de asociación cuya meta es correlacionar los trastornos psiquiátricos con diferencias individuales en la secuencia de ADN (asume relación directa entre genes y comportamiento) (Figura

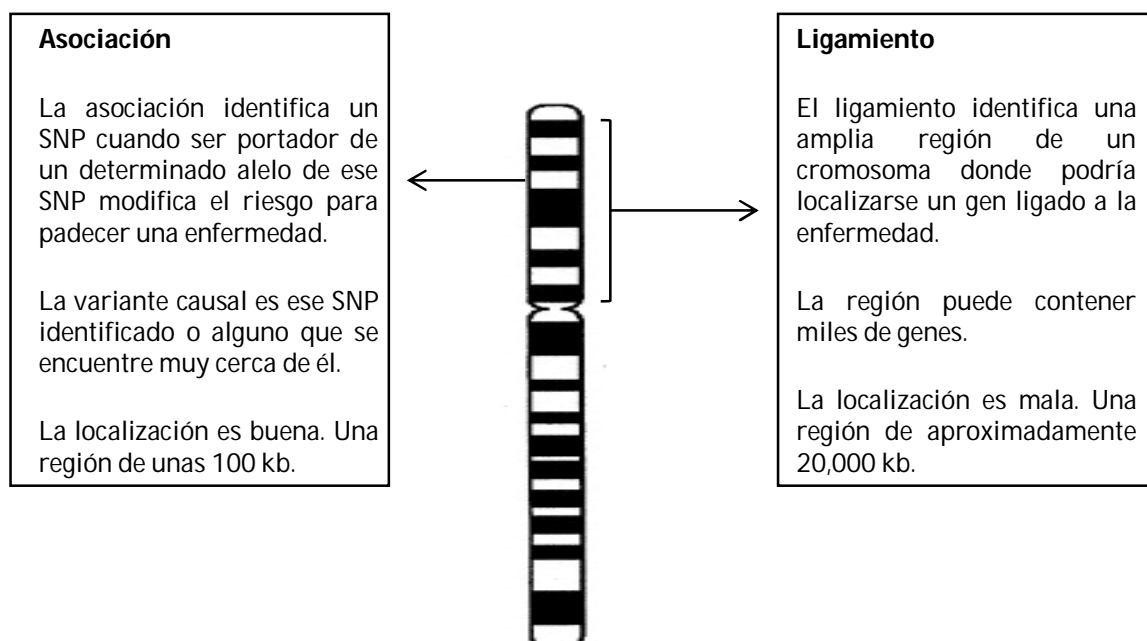


6); ii) Otros enfoques metodológicos como el análisis de endofenotipos, neuroimagen y secuenciación, entre otros; iii) Interacción G×E, es decir, factores ambientales son los que causan el trastorno mientras que los genes influyen la susceptibilidad a dichos patógenos.

### **Análisis de ligamiento (Linkage analysis)**

Bastante antes de que el genoma humano fuera secuenciado, se podía mapear la localización de los genes a cromosomas específicos. Para ello no era necesario conocer la secuencia de ADN, simplemente se necesitaba seguir la transmisión del gen en la familia basándose en distintos fenotipos asociados a diferentes alelos del mismo gen (Chial, 2008).

**Figura 6.** Asociación y ligamiento.



Este tipo de análisis habitualmente se sirve de genealogías en que la enfermedad está presente en distintos familiares, y se asume un patrón de herencia mendeliano. En estas familias se estudia la segregación de un determinado marcador genético y se ve si existe independencia entre la

transmisión de la enfermedad y los diferentes alelos del marcador. Si la enfermedad y un alelo determinado se transmitieran de forma conjunta (en desequilibrio de ligamiento; LD), se podría sugerir la existencia de un gen para la enfermedad situado cerca del polimorfismo usado como marcador (Cervilla & García-Ribera, 2000; Griffiths et al., 2000).

Entre las limitaciones que presentan este tipo de estudios, destacamos que tienen bajo poder para detectar los alelos de efecto menor en las enfermedades complejas y los resultados son muy sensibles a errores de genotipado, cambios en el diagnóstico de los familiares del paciente y problemas de heterogeneidad genética (Burmeister et al., 2008; Cervilla & García-Ribera, 2000).

Se han realizado numerosos estudios de este tipo en trastorno bipolar y esquizofrenia, pero han sido escasos en depresión mayor (Flint & Kendler, 2014). Los resultados derivados se incorporaron en estudios de asociación de genes candidatos posicionales (Burmeister et al., 2008).

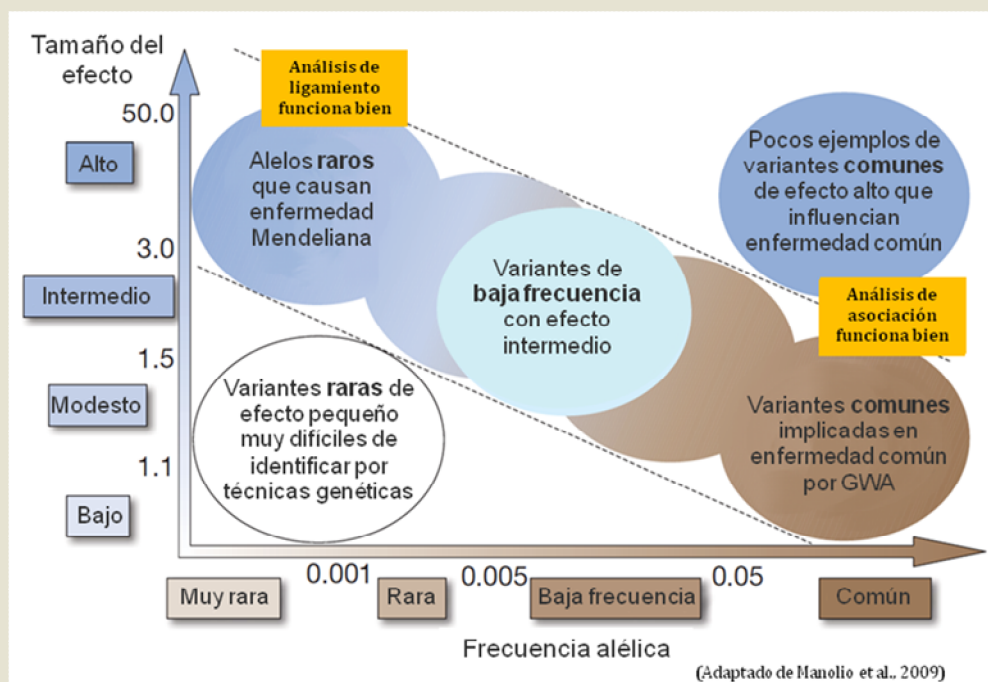
### ***Estudios de asociación genética***

Al enfrentarnos a enfermedades genéticamente complejas, y saber ya desde 1996 gracias a Risch y Merikangas que los estudios de asociación tienen más poder en la detección de genes de efecto menor que los estudios de ligamiento, nos encontramos ante el tipo de estudios que ha representado la mejor alternativa para la identificación de genes responsables en la etiología de enfermedades mentales (Burmeister et al., 2008; Risch & Merikangas, 1996). En el Box 3 encontramos información comparativa sobre los estudios de asociación y ligamiento. En sus inicios se basaron en genes candidatos, pero desde 2007 se han convertido en estudios de genoma completo o GWAS (por sus siglas en inglés *Genome Wide Association Studies*).

Un estudio de asociación genética testa si la presencia de una variante genética específica se correlaciona con un rasgo de interés, por ejemplo la presencia o ausencia de una enfermedad. Normalmente el diseño de los estudios de asociación se corresponde al de un estudio caso-control, donde se compara la frecuencia de un posible factor de riesgo en personas no emparentadas afectadas por una misma

enfermedad o rasgo con la frecuencia observada en personas sanas del mismo grupo étnico, la población control. En los estudios de asociación genética el factor de riesgo es siempre un marcador o polimorfismo genético habitualmente localizado en un gen candidato para la enfermedad. Si el polimorfismo analizado es significativamente más frecuente en el grupo de enfermos que en el de controles, diremos que existe una asociación entre dicho alelo y la enfermedad. Los resultados se dan en términos de riesgo relativo, como *odds ratio* (OR), una medida estadística que nos da idea del tamaño del efecto. En definitiva no es más que una forma de expresar cuántas veces es más probable padecer una enfermedad si se porta el marcador que si no se porta.

### Box 3. Estudios de ligamiento vs estudios de asociación.



Los estudios de ligamiento y asociación son métodos complementarios para localizar genes de susceptibilidad para enfermedades. El ligamiento puede detectarse en grandes distancias, pero el poder es un problema a la hora de detectar alelos de efecto menor. Por el contrario, los estudios de asociación tradicionales pueden detectar pequeños efectos pero solo en muy pequeñas distancias. Sin embargo, los estudios de ligamiento pueden proporcionar información sobre variantes raras, mientras que los de asociación no. Aprovechando el gran número de marcadores hoy día disponibles, recientemente se hizo posible el uso de los estudios de asociación de genoma completo o GWAS. Este método combina la ventaja de la amplitud escaneable en los estudios de ligamiento con el poder alcanzado en los estudios de asociación, aunque esto puede verse comprometido por la heterogeneidad alélica, donde existen múltiples efectos en el gen pero en diferentes haplotipos (Flint & Kendler, 2014).

Los genes candidatos en que se basan estos estudios pueden ser candidatos biológicos o posicionales. Los primeros son genes relacionados, conocida o hipotéticamente, con rutas metabólicas implicadas en la enfermedad o con la síntesis de proteínas diana de fármacos, mientras que los segundos son cualquier gen que se localice dentro de una región cromosómica implicada por ligamiento. De entre los candidatos biológicos, no solo de DM, destacan dos variantes por considerarse bien establecidas en la actualidad: i) La primera es una variante genética protectora, un alelo nulo funcional de una enzima que degrada el alcohol (ALDH2\*2), la aldehído deshidrogenasa 2. Más presente en los individuos del sudeste asiático, protege a sus portadores del riesgo de alcoholismo ya que les produce una nada placentera evacuación ante el consumo de alcohol; ii) La segunda es una variante genética de riesgo (5-HTTLPR = *5-hydroxytryptamine transporter gene-linked polymorphic region*) en el promotor del gen del transportador de serotonina 5-HTT (gen *SLC6A4*), que, como ya se ha visto, es diana de la mayoría de los antidepresivos (Burmeister et al., 2008).

En el caso concreto de la DM, a pesar de los casi 200 genes investigados, los estudios de asociación de genes candidatos han generado pocos hallazgos robustos. Solo siete genes candidatos (*5-HTTLPR/SLC6A4, APOE, DRD4, GNB3, HTR1A, MTHFR* y *SLC6A3*) analizados por metaanálisis han alcanzado significación estadística (Flint & Kendler, 2014). La ventaja principal de un metaanálisis es su potencial para proporcionar un resumen cuantitativo menos parcial de los hallazgos de muchos estudios a la vez (Sullivan et al., 2000). En la tabla 4 se resumen los datos procedentes de los metaanálisis de genes candidatos en los que se ha analizado la asociación entre las variantes genéticas y la DM.

En estos estudios es muy importante una buena definición de la enfermedad para asegurar la homogeneidad etiológica de los individuos, lo que en el caso de los trastornos psiquiátricos nos supone una limitación, ya que, como hemos comentado anteriormente, la atribución de un diagnóstico no es tan sencilla y homogénea como se desearía. No hay que descartar que se produzcan falsos positivos por azar, estratificación étnica de la muestra, *multiple testing*, heterogeneidad alélica, etc. (Burmeister et al., 2008).

**Tabla 4.** Metaanálisis de estudios de asociación entre genes candidatos y depresión mayor (adaptada de Flint & Kendler, 2014; Gatt, Burton, Williams, & Schofield, 2015).

Referencia	Estudios	Casos/Controles	P-valor	OR	IC 95%	Marcador
<b>5-HTR2A</b>						
Anguelova et al., 2003	7	768/959	0.597	0.96	0.84–1.11	rs6311
Jin et al., 2013	11	1,491/2,937	0.12	ND	ND	rs6311
<b>5HT-6R</b>						
Fukuo et al., 2010	4	701/2,422	0.406	0.94	0.80–1.08	rs1805054
<b>5-HTTLPR/SLC6A4</b>						
Clarke et al., 2010	39	6,836/14,903	0.007	1.09	1.02–1.16	44 pb ins/del
Anguelova et al., 2003	11	941/2,110	0.198	1.08	0.96–1.22	44 pb ins/del
Anguelova et al., 2003	10	592/2,094	>0.5	ND	ND	Intrón 2 VNTR
Furlong et al., 1998	4	275/739	0.049	1.2	1.00–1.45	44 pb ins/del
Lasky-Su et al., 2005	14	1,961/3,402	0.28	1.05	0.96–1.14	44 pb ins/del
López-León et al., 2008	22	3,752/5,707	<0.05	1.11	1.04–1.19	44 pb ins/del
López-León et al., 2008	8	ND	NS	1.33	0.78–2.27	Intrón 2 VNTR
<b>ACE</b>						
Wu et al., 2012	15	2,479/7,744	NS	1.15	1.02–1.3	Ins/del intrón 16
López-León et al., 2008	4	586/5,169	>0.1	0.85	0.55–1.3	Ins/del intrón 16
López-León et al., 2008	8	ND	NS	1.08	0.97–1.2	Ins/del intrón 16
<b>BDNF</b>						
Gyekis et al., 2013	3	331/688	0.103	0.83	0.67–1.04	rs16917204
Gyekis et al., 2013	2	285/746	0.527	1.16	0.74–1.82	rs2030324
Gyekis et al., 2013	2	777/1,541	0.831	0.98	0.85–1.14	rs988748
Gyekis et al., 2013	23	4,173/12,747	0.402	0.96	0.89–1.05	rs694
Chen et al., 2008b	9	3,879/3,151	0.918	1	0.94–1.07	rs694
López-León et al., 2008	8	ND	NS	1.01	0.93–1.09	rs694
Verhagen et al., 2010	14	2,812/10,843	>0.1	1.06	0.94–1.19	rs694
<b>CLOCK</b>						
Kishi et al., 2011	6	930/2,305	0.47	0.95	0.83–1.09	rs1801260
<b>COMT</b>						
López-León et al., 2008	6	ND	NS	0.98	0.86–1.13	rs4680
<b>DRD3</b>						
López-León et al., 2008	4	541/606	NS	1.06	0.85–1.34	rs6280
<b>DRD4</b>						
López-León et al., 2008	5	318/814	0.003	1.73	1.29–2.32	48 pb ins/del
<b>GABRA3</b>						
López-León et al., 2008	6	ND	NS	0.91	0.68–1.2	Repetición CA en intrón 8
<b>GNB3</b>						
López-León et al., 2008	3	375/492	<0.05	1.38	1.13–1.69	rs5443
<b>HTR1A</b>						
Kishi et al., 2009	7	1,658/2,046	0.0327	0.821	0.695–0.984	rs6295
López-León et al., 2008	4	ND	NS	1.16	0.98–1.38	rs6295
Kishi et al., 2013	13	3,199/4,380	0.006	0.87	0.78–0.96	rs6295

Referencia	Estudios	Casos/Controles	P-valor	OR	IC 95%	Marcador
<b>HTR1B</b>						
López-León et al., 2008	3	ND	NS	0.96	0.77–1.2	rs6296
<b>HTR2A</b>						
Anguelova et al., 2003	7	768/959	0.597	0.96	0.84–1.11	rs6311
Jin et al., 2013	11	1,491/2,937	0.12	ND	ND	rs6311
Gu et al., 2013	4	780/1,528	0.1	0.91	0.74–1.12	rs6311
López-León et al., 2008	4	ND	NS	1.01	0.85–1.21	rs6311
López-León et al., 2008	8	ND	NS	0.96	0.84–1.09	rs6313
<b>HTR2C</b>						
López-León et al., 2008	2	ND	NS	1.03	0.85–1.25	rs6318
<b>HTR6</b>						
Fukuo et al., 2010	4	701/2,422	0.406	0.94	0.80–1.08	rs1805054
<b>MAOA</b>						
López-León et al., 2008	4	ND	NS	0.86	0.65–1.13	VNTR en promotor
<b>MTHFR</b>						
Peerbooms et al., 2011	17	3,341/13,840	0.579	1.016	0.96–1.07	rs1801133
Lewis et al., 2006	9	1,241/1,021	0.003	1.36	1.11–1.67	rs1801133
Gilbody et al. 2007	10	1,280/10,429	<0.05	1.14	1.04–1.26	rs1801133
Zintzaras, 2006	5	291/897	>0.1	1.15	0.97–1.36	rs1801133
López-León et al., 2008	6	875/3,859	<0.05	1.2	1.07–1.34	rs1801133
Gaysina et al., 2008	4	1,222/835	0.39	0.96	0.84–1.09	rs1801133
<b>NET/SLC6A2</b>						
Zhao et al., 2013	6	1,673/1,410	0.78	1.02	0.91–1.13	rs5569
Zhao et al., 2013	6	1,681/2,938	0.78	1.03	0.84–1.27	rs2242446
López-León et al., 2008	3	ND	NS	0.97	0.8–1.18	rs2242446
<b>DAT/SLC6A3</b>						
López-León et al., 2008	3	151/272	<0.05	2.06	1.25–3.4	VNTR 3-UTR
López-León et al., 2008	3	ND	NS	0.94	0.84–1.05	VNTR 3-UTR
<b>TPH1</b>						
Chen et al., 2008a	10	1,812/2,223	>0.1	ND	ND	rs1800532
López-León et al., 2008	9	ND	NS	0.88	0.71–1.09	rs1800532

Casi todas las investigaciones se han centrado en genes que codifican para proteínas implicadas en vías de neurotransmisión del SNC (Levinson, 2006). La mayoría de los estudios de asociación genética en trastornos afectivos se han centrado en polimorfismos funcionales (variaciones en la secuencia de ADN que alteran la expresión y/o funcionalidad del producto génico) de genes que codifican para el transportador de 5-HT, diversos receptores diana (HTR2A, HTR2C, DRD3, DRD4), enzimas limitantes de la síntesis de neurotransmisores (tirosina hidroxilasa, TH, en la síntesis de DA; TPH1, en la síntesis de 5-HT) y otros enzimas del metabolismo (catecol-O-metiltransferasa, COMT, en el catabolismo de

catecolaminas como la DA; MAOA, en el metabolismo de las aminas biógenas como la 5-HT) (Kato, 2007; Levinson, 2006). Destacamos:

### Transportador de serotonina (SERT o 5-HTT)

La proteína transportadora 5-HTT o SERT es codificada por el gen *SLC6A4*, también conocido como *SERT*, localizado en la región q11.1-q12 del cromosoma 17. Contiene 14 exones que se extienden a lo largo de 31 Kb (Lesch et al., 1994). Este gen codifica para una proteína integral de membrana que se encuentra ampliamente distribuida por el cerebro. Esta proteína transporta el neurotransmisor 5-HT desde el espacio sináptico a la neurona presináptica, es decir, es responsable de la recaptación de serotonina (Ramamoorthy, 1993).

La función primaria del SERT en el SNC implica la regulación de la señalización serotoninérgica. Tras la liberación de 5-HT en las sinapsis del cerebro, las moléculas de neurotransmisor son transportadas desde el espacio sináptico de vuelta a la neurona presináptica para su reutilización. Así, concluye la acción sináptica de la 5-HT y la recicla de manera sodio-dependiente. Juega un papel clave en la mediación de la regulación de la disponibilidad de 5-HT para otros receptores de sistemas serotoninérgicos (Ramamoorthy et al., 1993).

El SERT es diana de muchos medicamentos antidepresivos como los ADTs y los ISRS, y puede mediar en los efectos tóxicos y/o de comportamiento de estimulantes psicomotores como las anfetaminas o la cocaína.

El gen del transportador de serotonina (5-HTT) ha sido extensamente estudiado, y posee varias regiones polimórficas que afectan a su expresión y función (Lesch et al., 1996). De todos los polimorfismos descritos, hay tres que han despertado un especial interés en la comunidad investigadora dada su relación con la vulnerabilidad a trastornos afectivos.

Existe un polimorfismo de tipo VNTR (del inglés *variable number of tandem repeats*) en el intron 2 del gen *SLC6A4* cuyo elemento de repetición es un fragmento de ADN de 17 pares de bases (pb). Se trata de una región reguladora de la transcripción que aumenta la actividad (Lovejoy, Scott, Fiskerstrand, Bubb, & Quinn, 2003). Los alelos identificados son STin2.9, STin2.10, y Stin2.12, que

contienen 9, 10, y 12 copias del elemento repetitivo. La presencia del alelo con 9 copias de la repetición se ha visto asociado con un nivel más alto de expresión que los alelos con 10 y 12 copias y con el riesgo de sufrir DM (Ogilvie et al., 1996).

Otro polimorfismo funcional, en este caso localizado en la región promotora del gen, influye en la actividad transcripcional del mismo y ha sido foco de muchas investigaciones genéticas relacionadas con depresión y otros trastornos mentales (Caspi, Hariri, Holmes, Uher, & Moffitt, 2010). Se trata del polimorfismo 5-HTTLPR o la región polimórfica ligada al gen del transportador de 5-HT, una inserción/delección funcional de 44 pb que da lugar a alelos largos de 528 pb (L) y cortos de 484 pb (S) asociados con una expresión diferencial del transportador 5-HTT y una recaptación de 5-HT también diferencial; la variante alélica L da lugar a una mayor eficacia transcripcional. En otras palabras, el alelo S está asociado con una disminución de la transcripción del gen *SLC6A4*, lo que resulta en una expresión disminuida del transportador de serotonina y una recaptación de 5-HT menos eficiente (Lesch et al., 1996).

La presencia del alelo S se ha presumido asociada con una mayor susceptibilidad para DM (Zalsman et al., 2006) así como con neuroticismo incrementado (Lesch et al., 1996; Shifman et al., 2008). Las frecuencias del alelo S varían ampliamente dependiendo de la etnia, por ejemplo, alrededor de dos tercios de los portadores de dicha variante alélica son de ascendencia europea y poblaciones asiáticas (Kunugi et al., 1997).

También se ha estudiado la implicación del polimorfismo 5-HTTLPR en la respuesta al tratamiento con ISRS en varios estudios de asociación de farmacogenética (Serretti, Olgiati, Bajo, Bigelli, & Ronchi, 2011). Variaciones en la región promotora del *SLC6A4* se han encontrado asociadas con tasas de remisión diferentes tras el tratamiento con ISRS (Serretti, Kato, De Ronchi, & Kinoshita, 2007). En algunos estudios, se ha observado que los individuos europeos homocigóticos para el alelo L del polimorfismo indel del promotor se beneficiaban más de tratamientos con fármacos que bloqueaban la recaptación de 5-HT que individuos sin el alelo L (Serretti & Artioli, 2004).



A pesar de todo, la gran cantidad de estudios de asociación que investigan el 5-HTTLPR y la depresión han resultado en hallazgos ambiguos (Cohen-Woods, Craig, & McGuffin, 2013). Esto podría deberse a tamaños muestrales pequeños, por lo que se han realizado varios metaanálisis para intentar sortear el problema. Tres metaanálisis demostraron una asociación del alelo S con depresión (Furlong et al., 1998; López-León et al., 2008; Lotrich & Pollock, 2004), mientras que otros dos no mostraron evidencias a favor de dicha asociación (Anguelova et al., 2003; Willis-Owen et al., 2005). Esta falta de replicación también podría deberse a la heterogeneidad existente en cuanto a los criterios de inclusión en los análisis.

También hay un polimorfismo de nucleótido único (SNP) asociado, rs25531, que se ha visto influencia la expresión general del *SLC6A4* en individuos con la forma L del polimorfismo 5-HTTLPR (Hu et al., 2007). Se ha observado que la situación es más compleja y los dos polimorfismos descritos anteriormente no son los únicos protagonistas afectando a la actividad transcripcional del gen *SLC6A4*. Se ha descrito un SNP, rs25531 (A/G), que afecta la transcripción génica como parte de un haplotipo con el 5-HTTLPR (Nakamura et al., 2000). Hay dos subtipos del alelo largo, la sustitución de G en combinación con el alelo L ( $L_G$ ) parece reducir la expresión a un nivel similar al del alelo S, mientras que el llamado alelo  $L_A$  resulta en una alta actividad transcripcional (Hu et al., 2007). Así, se crean dos grupos haplotípicos funcionales dependiendo de la expresión:  $L_G$  frente a  $L_G$ ,  $S_A$  y  $S_G$  (o lo que es lo mismo, expresión baja: S/S; expresión alta:  $L_A/L_A$ ; expresión intermedia:  $S/L_A$ ;  $S/L_G$ ;  $L_G/L_G$ ;  $L_A/L_G$ ) (Bevilacqua & Goldman, 2011).

Actualmente, el objetivo es utilizar esta clasificación trialélica del 5-HTTLPR teniendo en cuenta el SNP rs25531, ya que, hasta el momento, hay relativamente pocos estudios que incorporen dicho SNP en sus investigaciones.

Para hacernos una idea más amplia de la implicación de estos polimorfismos en la DM debemos incorporar a escena la adversidad ambiental (Caspi et al., 2003), como veremos más en detalle en el punto 3.3.3. Interacción genético-ambiental y riesgo de depresión, así como en resultados procedentes de otras metodologías.

### Monoamino oxidasa A (MAOA)

El enzima MAOA es codificado por el gen *MAOA*, localizado en el cromosoma Xp11.23-p11.4 (Levy et al., 1989). Contiene 15 exones que se extienden a lo largo de 60 Kb (Grimsby, Chen, Wang, Lan, & Shih, 1991). Este gen codifica un enzima mitocondrial de membrana clave en la degradación de aminas biológicas como la 5-HT, la NA y la DA, cuya regulación es importante en el mantenimiento de un estado mental normal (Youdim & Bakhle, 2006).

La alteración en la concentración de neurotransmisores de tipo monoamina en el cerebro se considera uno de los mecanismos neurobiológicos responsable de los síntomas clínicos de la DM que ha persistido a lo largo de la historia de la enfermedad. Como se ha comentado previamente, la MAOA juega un papel crucial en la finalización de la función de neurotransmisores como la dopamina, la 5-HT o la NA (Shih & Chen, 2004). De acuerdo con esto, los ratones *knock-out* para MAOA muestran concentraciones cerebrales elevadas de dopamina, 5-HT y NA (Chen, 2004). Por tanto, los factores genéticos que confieren una mayor actividad catalítica de la MAOA podrían dar lugar a una susceptibilidad hereditaria para la DM, o lo que es lo mismo, la MAOA se cree ligada al riesgo para sufrir trastornos psiquiátricos como la DM influyendo directamente en la regulación de los niveles de neurotransmisores en el cerebro (Aklillu, Karlsson, Zachrisson, Ozdemir, & Agren, 2009). Por ello, la inhibición de la actividad MAOA se ha utilizado durante mucho tiempo como estrategia farmacológica en el tratamiento de enfermedades mentales, más concretamente en los trastornos afectivos (Voltas, Aparicio, Arija, & Canals, 2015).

El gen *MAOA* ha sido extensamente estudiado en relación a diversas condiciones de salud mental tanto en niños como en adultos, que incluyen DM (Lung, Tzeng, Huang, & Lee, 2011; Rivera et al., 2009), trastornos del espectro autista (Tassone et al., 2011; Verma et al., 2014), comportamientos agresivos (Byrd & Manuck, 2014; Caspi et al., 2002), trastorno de pánico (Reif et al., 2012) y trastorno por déficit de atención e hiperactividad (Guan et al., 2009; Nymberg et al., 2013). Este gen posee variaciones genéticas que afectan a su expresión y función, pero entre la comunidad científica se ha prestado especial atención al

polimorfismo uVNTR del promotor por su influencia a nivel transcripcional y en las enfermedades mentales (Aklillu et al., 2009). Esta relación entre las variantes del polimorfismo uVNTR y un patrón particular de síntomas psicopatológicos ha sido apoyada por estudios anteriores tanto en humanos como en ratones (Cases et al., 1995; McDermott, Tingley, Cowden, Frazzetto, & Johnson, 2009).

El polimorfismo MAOA-uVNTR situado en la región promotora del gen suele presentar seis alelos dependiendo de si hay 2, 3, 3.5, 4, 5 o 6 copias de una secuencia de 30 pb. Estos alelos se dividen en dos grupos según sea su actividad transcripcional, es decir, habrá genotipos con alelos de baja actividad (*MAOA-L*) y de alta actividad (*MAOA-H*) (Guo, Ou, Roettger, & Shih, 2008; Sabol, Hu, & Hamer, 1998). Estudios funcionales indican que la eficiencia transcripcional puede depender del número de repeticiones, es decir, ciertos alelos pueden conferir una eficiencia transcripcional más baja que otros. Concretamente, el alelo con 3 repeticiones (3R) da lugar a una eficiencia más baja, mientras que los alelos con 3.5 y 4 repeticiones (3.5R y 4R) resultan en una mayor eficiencia (Sabol et al., 1998). Las tasas poblacionales de este polimorfismo uVNTR indican que los alelos 3R y 4R son los más comunes, aunque la prevalencia varía según la etnia. Gracias a ensayos de fusión génica y transfección se han determinado tasas de transcripción basales desde dos a diez veces superiores en presencia del alelo 4R (alta actividad, *MAOA-H*) que en presencia del alelo 3R (baja actividad, *MAOA-L*) (Haberstick et al., 2014). Con respecto al resto de alelos menos comunes (2R, 5R y 6R), existe hoy día menos consenso en cuanto a su eficiencia transcripcional.

Muchos estudios no encuentran asociación entre este polimorfismo uVNTR y los trastornos afectivos o específicamente la DM (Christiansen et al., 2007). Sin embargo, también hay hallazgos positivos que incluyen la asociación de alelos de alta actividad y genotipos homocigotos para alelos de alta actividad con DM, especialmente en mujeres (Rivera et al., 2009; Schulze et al., 2000; Yu et al., 2005) y la asociación con subtipos de DM (Gutiérrez et al., 2004). A grandes rasgos, podríamos decir que individuos con baja actividad MAOA, particularmente los hombres, tienen mayor probabilidad para desarrollar un comportamiento antisocial, trastornos de la conducta, disposición hacia un comportamiento

violento o convicción para cometer actos violentos que aquellos con alta actividad MAOA (Caspi et al., 2002; Guo et al., 2008).

Al igual que lo comentado en el caso de los polimorfismos del *SLC6A4*, para un mejor entendimiento del papel del polimorfismo MAOA-uVNTR en la DM es interesante incorporar factores ambientales (Caspi et al., 2002). En general podríamos decir que el genotipo MAOA-L se ha visto asociado de forma consistente con trastorno de la conducta y comportamiento antisocial en varones expuestos a adversidad infantil (Caspi et al., 2002; Frazzetto et al., 2007; Kim-Cohen et al., 2006; Nilsson, Comasco, Hodgins, Orelund, & Åslund, 2015; Widom & Brzustowicz, 2006).

#### Factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF)

La proteína BDNF es codificada por el gen *BDNF*, localizado en la región 11p13/11p14 (Hanson, Seawright, & van Heyningen, 1992). Contiene 11 exones que se extienden a lo largo de 70 kb (Pruunsild, Kazantseva, Aid, Palm, & Timmusk, 2007). Este gen codifica un factor neurotrófico o de crecimiento ampliamente distribuido por el SNC. Está implicado en la proliferación, diferenciación y supervivencia de las células neuronales, así como en la regulación de la plasticidad sináptica y conectividad en el cerebro adulto (Post, 2007). También se cree implicado en la sensibilidad al estrés (Hosang et al., 2014).

Como ya se ha explicado más detalladamente en el punto 3.3.1.4. Hipótesis neurotrófica, el estrés reduce la actividad del BDNF dando lugar a una función reducida en las regiones límbicas del cerebro (por ejemplo, el hipocampo) implicadas en el procesamiento de las emociones y los procesos cognitivos (Martinowich et al., 2007). Esta reducción se cree está asociada con un humor deprimido, mientras el tratamiento con antidepresivos parece revertir este efecto (Castrén & Rantamäki, 2010; Stein, Daniels, Savitz, & Harvey, 2008). Hallazgos procedentes de varios metaanálisis muestran niveles más bajos de BDNF en suero entre pacientes deprimidos que en controles, pero esos niveles se normalizaban al aplicar tratamiento con antidepresivos (Molendijk et al., 2014; Sen, Duman, & Sanacora, 2008).

Tanto las variaciones en el gen *BDNF* como la exposición a estrés influyen en la expresión y tráfico intracelular del BDNF. Como se ha comentado anteriormente, se ha postulado que el estrés causa una reducción en los niveles de BDNF en el cerebro (en particular en las regiones ligadas a las emociones), lo que altera el humor y puede originar depresión (Stein et al., 2008). Por ello, el gen *BDNF* se ha clasificado como un gran candidato para su estudio en relación a la vulnerabilidad a estrés y trastornos afectivos.

La mayoría de la investigación sobre el *BDNF* en DM se ha centrado en un polimorfismo funcional, el rs6265 o Val66Met, aunque en ocasiones acoplado junto al polimorfismo de tipo microsatélite GT<sub>n</sub> y otros SNPs (Cohen-Woods et al., 2013). Aunque los resultados obtenidos son conflictivos, en el mayor estudio caso-control realizado hasta la fecha, se reportaba una asociación de un haplotipo de tres marcadores (rs6265-GT<sub>n</sub>-rs988748) que además ha sido replicada en una segunda muestra (Schumacher et al., 2005). Sin embargo, esta asociación no se replica en una muestra mayor (Cohen-Woods et al., 2013).

Se ha observado que el polimorfismo de tipo SNP rs6265, sustitución de un aminoácido valina (Val) por metionina (Met), afecta a la actividad del BDNF (Rybakowski, 2008). El alelo Met del polimorfismo Val66Met del *BDNF* se ha asociado con una actividad reducida de la proteína (Post, 2007), y se ha visto que personas con al menos un alelo Met y alto riesgo de sufrir algún trastorno afectivo (por ejemplo, un hermano gemelo con un trastorno afectivo) tienen elevados los niveles de cortisol por la tarde, lo que sugiere una respuesta al estrés alterada (Vinberg et al., 2009). Se han encontrado resultados similares en estudios con ratones transgénicos (Chen et al., 2006). Aún así, ante un panorama de estudios individuales inconsistentes, la implicación del gen *BDNF* en la DM sigue siendo controvertida.

Por otro lado, la mayoría de los estudios llevados a cabo hasta ahora proporcionan indicios a favor de una interacción significativa entre el polimorfismo *BDNF* Val66Met y el estrés en la DM (Hosang et al., 2014). Como veremos más detalladamente en el punto 3.3.3. Interacción genético-ambiental y riesgo de depresión, hay fuertes evidencias que apoyan una asociación entre estrés

vital y DM, por lo que las investigaciones se están centrando en identificar factores de vulnerabilidad al estrés en la DM, entre los que se encuentran factores genéticos como son los polimorfismos en el *BDNF* y en el gen del receptor 1 de la hormona liberadora de corticotropina *CRHR1* (Xiao et al., 2011).

### **3.3.2.3. Nuevos abordajes metodológicos**

#### ***Estudios de asociación de genoma completo (GWAS)***

Los genes candidatos, y los avances tecnológicos, dan paso a los esperanzadores GWAS o estudios de asociación de genoma completo (Manolio, 2010; Sullivan, 2010). Se trata de estudios de tipo caso-control en los que la muestra de ADN de cada individuo es analizada para millones de variantes genéticas, generalmente SNPs, a lo largo de todo el genoma. También, gracias al análisis de las intensidades relativas de las etiquetas fluorescentes usadas en los ensayos, esta tecnología puede detectar más variaciones en el número de copias (CNVs) en el genoma que los antiguos métodos citogenéticos (Rucker et al., 2013; The Psychiatric GWAS Consortium et al., 2009).

En los estudios de genes candidatos se estudia una posición específica del genoma, quizás un gen único, y se genotipa solo ese gen en particular por creer que está asociado con la enfermedad. Por el contrario, en los GWAS se estudian variantes genéticas comunes (frecuencia alélica  $> 0.01$ ) a lo largo de todo el genoma y sin una concepción previa de donde reside la asociación. En ellos se genotipan aproximadamente un millón de marcadores de tipo SNP, con lo que probablemente se detecta una asociación indirecta (*tagging*). Estos SNPs genotipados capturan la mayoría de la variabilidad común en el genoma, aunque el grado de correlación entre marcadores (LD) es el que determina la habilidad de un conjunto de SNPs para detectar una señal genética, en este caso con todos los SNPs comunes, alrededor de diez millones (Weale, 2010). Es decir, genotipar un grupo único de *loci* captura la mayoría de la variabilidad común del genoma. Por el contrario, si una variante probablemente asociada con la enfermedad no está en

LD con alguno de los SNPs incluidos en el chip o *array* usado en el estudio, esta no puede ser detectada (Flint & Kendler, 2014).

Típicamente, los GWAS se llevan a cabo en dos fases: una fase de descubrimiento, donde se escanea todo el genoma, y una fase de replicación, donde un subconjunto de SNPs es analizado en una muestra independiente (Flint & Kendler, 2014). Al tener un diseño caso-control, también comparten las limitaciones de ese tipo de diseños, pero cada vez se realizan mejores GWAS en trastornos mentales (Psychiatric GWAS Consortium Steering Committee, 2009; van der Sluis, Posthuma, Nivard, Verhage, & Dolan, 2013). Al principio ninguno logró arrojar ningún resultado consistente, muy probablemente debido a que no se alcanzaban tamaños muestrales tan elevados como los utilizados en estudios de diabetes tipo II, donde contaban con 38,000 casos y controles, en comparación con los pocos miles que con suerte se conseguían para trastornos mentales. Pero, con el paso del tiempo y gracias a tamaños muestrales mucho más elevados, se han logrado resultados significativos. Por ejemplo, el Consorcio de Psiquiatría Genómica (PGC) publicó recientemente un mega-análisis para esquizofrenia y trastorno bipolar en el que identificaron asociados significativamente siete y dos *loci* respectivamente. En el trastorno bipolar destaca la subunidad del canal de calcio CACNA1C, y en esquizofrenia la región del complejo mayor de histocompatibilidad (región MHC) (Sullivan et al., 2012).

Existen gran cantidad de estudios de asociación genética en enfermedades mentales, pero, sin todavía el éxito esperado en los hallazgos, pocos son los genes en que se ha encontrado asociación descrita y replicada por grupos independientes (Cervilla & García-Ribera, 2000). En la Tabla 5 se resumen los genes que hasta el momento se han asociado de forma consistente a distintos trastornos.

**Tabla 5.** Genes asociados a trastornos psiquiátricos.

<b>Gen</b>	<b>Locus</b>	<b>Hallazgos</b>
Alcohol deshidrogenasa 2	<i>ADH2</i>	Actividad incrementada de la enzima asociada a protección frente alcoholismo
Aldehído deshidrogenasa 2	<i>ALDH2</i>	Actividad baja o nula de la enzima asociada a protección frente alcoholismo
Catecol-O-metiltransferasa	<i>COMT</i>	Asociación con procesamiento cognitivo y umbral del dolor
Receptor de dopamina D4	<i>DRD4</i>	Asociación con ADHD (Trastorno por déficit de atención e hiperactividad)
Receptor de GABA A subunidad alfa 2	<i>GABRA2</i>	Asociación con trastornos de abuso de alcohol y endofenotipos
Monoamino oxidasa A	<i>MAOA</i>	Variante nula asociada a comportamiento impulsivo-agresivo y variante funcional en el promotor asociada a comportamiento impulsivo y antisocial en interacción con maltrato
Transportador de solutos familia 6, miembro 4	<i>SLC6A4</i> o <i>SERT</i>	Alelo S asociado con neuroticismo incrementado y síntomas de depresión en interacción con factores ambientales, y asociado también a muchos otros rasgos de comportamiento. También asociado a procesamiento de la amígdala (evidencias de fMRI)

Al igual que en los estudios de asociación en genes candidatos, el éxito aún ha de visitar a los GWAS para DM. Desgraciadamente, los intentos por identificar de forma robusta variantes genéticas que contribuyan a la DM han fallado hasta el momento. En resumen, no se ha encontrado ninguna asociación significativa a nivel de GWAS ( $P < 5 \times 10^{-8}$ ) (Flint & Kendler, 2014). En la Tabla 6 se recapitulan los nueve GWAS realizados hasta el momento para DM.

Los datos obtenidos hasta ahora son compatibles con la hipótesis de que la base genética de la DM surge del efecto conjunto de muchos *loci* de efecto menor (OR < 1.2). Sin embargo, estos también son compatibles con la existencia de *loci* de efecto mayor, ya sea porque parte de la heredabilidad de la DM podría explicarse por variantes raras con gran efecto, o porque tamaños del efecto más grandes podrían observarse si se pudieran identificar grupos fenotípicos heredables más homogéneos (Flint & Kendler, 2014).



**Tabla 6.** Resumen de los GWAS en depresión mayor (adaptada de Flint & Kendler, 2014; Gatt et al., 2015).

Referencia	Muestra	Casos/Controles	SNPs	Marcador	OR	P-valor
<b>Sullivan et al., 2009</b>						
Holanda	Descubrimiento	1,738/1,802	435,291	rs2715148	0.79	$7.70 \times 10^{-7}$
Holanda	Replicación	6,079/5,893	-	rs2715148	ND	$8.20 \times 10^{-1}$
<b>Lewis et al., 2010</b>						
UK	Descubrimiento	1,636/1,594	471,747	rs9416742	0.719	$1.30 \times 10^{-7}$
UK	Metaanálisis	1,418/1,918	-	rs606149	1.248	$2.57 \times 10^{-6}$
<b>Muglia et al., 2010</b>						
Europe	Metaanálisis	1,359/1,782	494,678	rs4238010	0.58	$5.80 \times 10^{-6}$
<b>Rietschel et al., 2010</b>						
Alemania	Descubrimiento	604/1,364	491,238	rs2765493	1.45	$2.26 \times 10^{-7}$
Alemania	Metaanálisis	1,013/1,905	-	rs7713917	0.75	$1.48 \times 10^{-6}$
<b>Kohli et al., 2011</b>						
Europa/EEUU	Descubrimiento	353/366	365,676	rs1545843	2.84	$5.53 \times 10^{-8}$
Europa/EEUU	Replicación	3,738/10,635	-	rs1545843	1.315	$1.40 \times 10^{-9}$
<b>Shi et al., 2011</b>						
EEUU	Descubrimiento	1,020/1,636	671,421	rs17077450	1.61	$1.83 \times 10^{-7}$
<b>Shyn et al., 2011</b>						
EEUU	Descubrimiento	1,221/1,636	382,598	rs12462886	0.76	$1.73 \times 10^{-6}$
EEUU	Metaanálisis	3,957/3,428	-	rs1106634	1.295	$6.78 \times 10^{-7}$
<b>Wray et al., 2012</b>						
Australia/ Europa/EEUU	Descubrimiento	2,431/3,673	1,251,157	rs182358	0.78	$8.80 \times 10^{-6}$
Australia/ Europa/EEUU	Metaanálisis	5,763/6,901	-	rs12446956	1.22	$1.10 \times 10^{-6}$
<b>Ripke et al., 2013</b>						
Australia/ Europa/EEUU	Descubrimiento	9,240/9,519	1,235,109	rs11579964	0.846	$1.00 \times 10^{-7}$
Australia/ Europa/EEUU	Replicación	6,783/50,695	-	rs1969253	1.049	$4.79 \times 10^{-6}$

Además de las aproximaciones anteriores que tratan de dilucidar parte de la etiología que subyace a los trastornos psiquiátricos, existen otras estrategias alternativas que, aunque menos explotadas, tienen mucho que aportar:

### ***Endofenotipos***

La mayoría de los estudios que se han abordado hasta el momento hacen uso de etiquetas diagnósticas cerradas, pero ¿y si las variantes genéticas incrementaran o redujeran un rasgo cuantitativo?, ¿y si en lugar de límites artificiales, los rasgos y trastornos se solaparan situándose así en un *continuum*

que viaja desde el rasgo normal hasta el trastorno debido a la interacción de diversos factores? Tras la idea de que algunos trastornos psiquiátricos podrían estar en el extremo final de determinadas variaciones de personalidad, nacen los endofenotipos con la intención de reemplazar las etiquetas diagnósticas de la enfermedad.

En psiquiatría, la definición de endofenotipo conserva la idea de un proceso interno que puede medirse objetivamente, idealmente de manera robusta y fiable, una característica de la que normalmente carecen las enfermedades con las que se asocia. Según Gottesman, un endofenotipo debería ser heredable, cosegregar con una enfermedad psiquiátrica, pero aún así estar presente cuando la enfermedad no lo esté (es decir, ser independiente del estado), y encontrarse en familiares no afectados con mayores tasas que en la población general (Gottesman & Gould, 2003). El criterio de independencia del estado se ha modificado para tener en cuenta la importancia de los factores epigenéticos y de desarrollo, de modo que el endofenotipo puede manifestarse solo a determinada edad y/o en condiciones particulares (Gregor Hasler, Drevets, Gould, Gottesman, & Manji, 2006). Asimismo, diferentes investigadores han añadido otros criterios que definen un endofenotipo. Por ejemplo, éstos deben ser parte del proceso causal por el que se origina la enfermedad (Lavori et al., 2002), deben estar implicados en un mecanismo biológico de patogénesis plausible (Castellanos & Tannock, 2002), o deben ser cuantificables de forma continua, predecir el origen del trastorno y estar más cerca del agente causante (ya sea genético o ambiental) que las categorías diagnósticas (Almasy & Blangero, 2001). También se ha sugerido que se le debe dar prioridad a los endofenotipos fundamentados en la neurociencia (Flint & Munafò, 2006).

Estos fenotipos intermedios del trastorno se asume que tendrían una base genética más sencilla, y por tanto su estudio sería también más sencillo (Cuthbert, 2014; Gottesman & Gould, 2003). Mejorando las definiciones fenotípicas de la enfermedad, los endofenotipos aumentarán el poder de los estudios de asociación tanto en genes candidatos como en el genoma completo. Asimismo, ayudarán a desarrollar y evaluar nuevos tratamientos terapéuticos (Hasler & Northoff, 2011).

Los estudios de asociación realizados con endofenotipos han ayudado a la identificación genética y siguen siendo muy prometedores (Flint, Timpson, & Munafò, 2014; Gregor Hasler, Drevets, Manji, & Charney, 2004). Por ejemplo, como se ve en la Tabla 5, se encuentran resultados concluyentes sobre la asociación del alelo S del transportador de serotonina 5-HTT con un endofenotipo de la depresión, el neuroticismo elevado.

También se ha propuesto la utilización de estrategias de *imaging endophenotypes* para mejorar la definición fenotípica de la DM. Este tipo de endofenotipos se derivan de medidas de espectroscopía por resonancia magnética (por ejemplo, GABA cortical y concentraciones de glutamato/glutamina) y de medidas de actividad en reposo y conectividad funcional (Hasler & Northoff, 2011).

### ***Anomalías cromosómicas estructurales***

En el caso de enfermedades mendelianas raras, varias anomalías del tipo delección (caso del síndrome velocardiocéfalo) o translocación se han visto asociadas a síntomas psiquiátricos (Clancy & Shaw, 2008). Esto ayuda en la localización de regiones donde podrían encontrarse genes candidatos (Rietschel et al., 2012). De igual modo sucede con las mutaciones estructurales *de novo*, por ejemplo en relación al autismo (Burmeister et al., 2008).

### ***Modelos animales***

Los estudios de DM usando animales mayoritariamente se orientan a tests de comportamiento como las respuestas a estrés (son utilizados principalmente para tener un punto de partida en las investigaciones sobre interacción gen-ambiente), o son intentos de modelizar o medir aspectos del trastorno como por ejemplo la indefensión o la anhedonia (Donaldson & Hen, 2015). También se estudian roedores que tienen un comportamiento intrínseco parecido a la DM (Krishnan & Nestler, 2011; Overstreet, 2012). Estos modelos, aunque útiles, deberían tratarse con cautela puesto que no está claro cómo de buena es su correspondencia con los comportamientos humanos que se intentan replicar (Nestler & Hyman, 2010).

Su principal utilidad reside en su gran valor para debatir sobre los cambios fisiológicos anormales que conducen a una DM, así como opciones de tratamiento (Monteggia, Malenka, & Deisseroth, 2014).

Por ejemplo, en el caso del polimorfismo 5-HTTLPR en relación con DM, además de replicarse los efectos en las estructuras límbicas, hay evidencias que apuntan a efectos mediados por este polimorfismo en las áreas prefrontales ejecutivas que muestran un impacto beneficioso del alelo S en procesos cognitivos (Homborg & Lesch, 2011). En algunos primates existe un análogo funcional al polimorfismo 5-HTTLPR de humanos (Bennett et al., 2002), mientras que en ratones es necesario manipular genéticamente el gen *SLC6A4* al no disponer de ningún polimorfismo análogo (Jennings et al., 2006).

Otro ejemplo, que apoyaría la hipótesis neurotrófica expuesta en el punto 3.3.1.4, es que los ratones transgénicos portadores del alelo Met del polimorfismo Val66Met del gen *BDNF* exhiben niveles disminuidos de BDNF en el hipocampo (Murakami, Imbe, Morikawa, Kubo, & Senba, 2005).

### ***Neuroimagen***

Esta técnica ha aportado buenos resultados en la DM, donde se han identificado fenotipos de neuroimagen del trastorno (aumento de lesiones hipertensas en la sustancia blanca o una atrofia del hipocampo) (Cole et al., 2012; Colloby et al., 2011; McKinnon, Yucel, Nazarov, & MacQueen, 2009; Palazidou, 2012). Otro tipo de estudios son los que implican el uso de resonancia magnética funcional (fMRI). Un enfoque consiste por ejemplo en comparar respuestas de grupos de individuos con genotipos diferentes utilizando medidas de neuroimagen funcional (Caspi & Moffitt, 2006).

Por ejemplo, en la última década, muchos estudios de neuroimagen, tanto funcionales como anatómicos, han investigado los efectos del polimorfismo 5-HTTLPR en el cerebro y cómo se ven afectadas las emociones (Hariri & Holmes, 2006; Scharinger et al., 2010). Se ha encontrado de forma repetida que los portadores del alelo S exhiben una respuesta exagerada de la amígdala cuando se

les presentan estímulos emocionales negativos (por ejemplo, imágenes de caras con miedo) (Hariri & Holmes, 2006; Hariri et al., 2002; Scharinger et al., 2010).

### **Epigenética**

Se está erigiendo como un puente capaz de conectar la biología y la salud mental. Se trata de una ciencia basada en el estudio de la forma en que los factores ambientales y estilos de vida pueden determinar la expresión de determinados genes. No solo los genes se heredan, también otros cambios del genoma que, sin alterar la secuencia de ADN y de forma reversible en muchos casos, determinan que un gen se exprese o no en función de condiciones ambientales (Mahgoub & Monteggia, 2013; Simmons, 2008).

La modificación epigenética de la expresión génica (por ejemplo, metilación del ADN, acetilación de las histonas, desregulación del micro-ARN) es una herramienta para entender la relación entre los efectos a largo plazo de los AVEs y los cambios de expresión génica asociados con DM. De hecho, factores de riesgo para DM como los AVEs, están asociados a cambios epigenéticos tanto en estudios preclínicos como clínicos (Dalton, Kolshus, & McLoughlin, 2014; Schroeder, Krebs, Bleich, & Frieling, 2010).

Se han encontrado modificaciones epigenéticas en individuos con DM en genes como el *BDNF* y su receptor *Trk B*, así como en sinapsinas y subunidades de receptores GABA. También se han observado alteraciones en los niveles de micro-ARN y polimorfismos en el micro-ARN, sus precursores, sus ARNs mensajeros diana y en genes que regulan la biogénesis del micro-ARN. La epigenética puede también tener un papel en el modo de acción del tratamiento antidepresivo, que parece revertir o iniciar alteraciones epigenéticas compensatorias (Dalton et al., 2014; Sun, Kennedy, & Nestler, 2013).

Aunque sigue siendo un campo en desarrollo, se cree que las investigaciones en este campo pueden proporcionar nuevos biomarcadores para susceptibilidad y/o inicio de la enfermedad, mejorar el diagnóstico y ayudar al desarrollo de mejores terapias.

### ***Secuenciación de genoma/exoma completo***

Hasta ahora los GWAS han fallado en su intento por identificar de forma robusta variantes genéticas que contribuyan a la DM (Flint & Kendler, 2014). Además, como ya se ha explicado, este tipo de estudios están diseñados para identificar la variación común del genoma. Los alelos comunes solo suponen una fracción de la heredabilidad en las enfermedades complejas, por lo que las investigaciones más actuales están centrándose en la identificación tanto de variantes comunes como de variantes raras asociadas a la enfermedad (Marian, 2012).

Para abordar este cambio conceptual, se recurre a la secuenciación, una aproximación que permite la identificación no solo de las variantes raras sino también de las comunes. Gracias a los avances tecnológicos en las técnicas de secuenciación de ADN, ahora es posible secuenciar todo el genoma o todo el exoma. Esta tecnología, al mismo tiempo, permite solventar las limitaciones actuales de los *arrays* de genotipado por hibridación (*microarrays*) y la secuenciación clásica (Biesecker, 2010; Kahvejian, Quackenbush, & Thompson, 2008).

La secuenciación del exoma es una técnica para secuenciar todos los genes que codifican para proteínas (el exoma), aproximadamente un 1% de todo el genoma humano. Para ello se seleccionan únicamente los exones (partes del ADN que codifican proteínas), que seguidamente son secuenciados gracias a tecnología de secuenciación de ADN de alto rendimiento o nueva generación (en inglés, *Next Generation Sequencing, NGS*). Esta estrategia solo es capaz de identificar aquellas variantes que se localizan en la región codificante de los genes que afectan a la función de la proteína, no las variantes estructurales y no codificantes asociadas a la enfermedad (en el 99% restante del genoma humano). Estas últimas pueden encontrarse gracias a otros métodos como la secuenciación de genoma completo, que como su nombre indica consiste en secuenciar la totalidad del genoma (ver Box 4) (Ng et al., 2009).

#### Box 4. Secuenciación de genoma/exoma completo.

Toda la secuencia de ADN conforma el genoma, es decir, la composición genética completa, que, a excepción de los gemelos univitelinos o monozigóticos es única para cada individuo, heredándose la mitad del progenitor masculino y la otra mitad del femenino. En cifras y resumiendo, el genoma humano supone unas  $3 \times 10^9$  pb, 23 parejas de cromosomas y alrededor de 20.000 genes.

Existen diferentes formas de observar el ADN, con técnicas en continua evolución desde el nacimiento de la biología molecular hace unos 50 años. En muchas ocasiones en investigación se usa la secuenciación para observar el ADN. Este método "lee" cada letra o nucleótido del ADN y encuentra cambios (variaciones o mutaciones) en los genes que pueden causar enfermedades o afectar al riesgo para padecer determinada enfermedad.

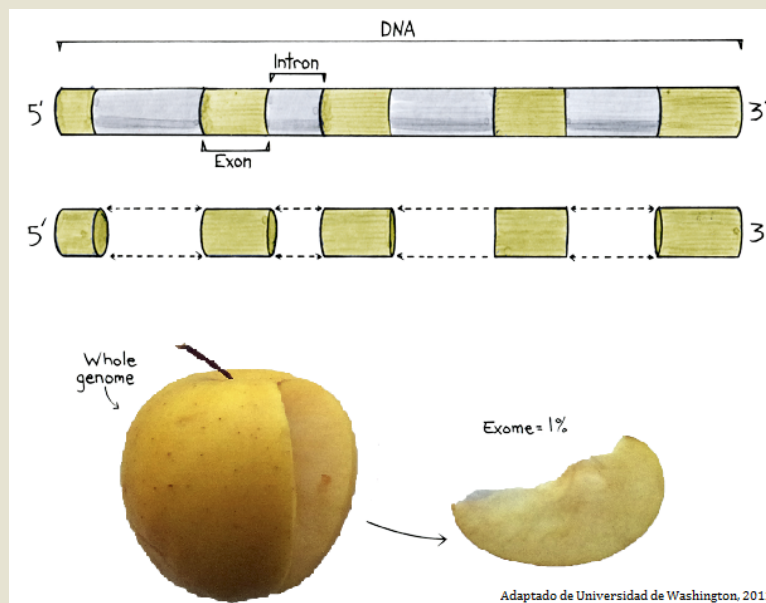
#### Secuenciación de genoma completo

La secuenciación de todo el código genético de una persona. Se puede obtener gran cantidad de información genética "leyendo" cada letra de nuestro ADN, nuestro genoma.

#### Secuenciación de exoma completo

Sorprendentemente, la mayoría de nuestro genoma no contiene genes, y existen muchas regiones sin genes. A veces se decide secuenciar solo las partes del genoma que contienen genes, es decir, el exoma, con la técnica conocida como secuenciación de exoma completo. El exoma supone alrededor del 1% del genoma y es el que contiene las instrucciones para codificar todas las proteínas de nuestro cuerpo.

Con esta técnica se reduce el tiempo de análisis y se abaratan los costes, lo que hace posible aumentar el número de muestras que se secuencian y por tanto comparar grandes poblaciones. Además, la interpretación de los resultados es más sencilla que en el caso de la secuenciación de genoma completo.



La secuenciación de genoma completo goza de muchas ventajas, por ejemplo, permite el análisis de regiones reguladoras como son los promotores, es más fiable en su cobertura, sin sesgos en la secuenciación,... Aunque llegará a ser la estrategia elegida para la comprensión de la variación genética encontrada en las poblaciones, actualmente no es nada práctica debido a los elevados costes

asociados y a su compleja interpretación. Por ello se recurre a la secuenciación del exoma, que a pesar de ser algo más cara que otras tecnologías (por ejemplo, las basadas en hibridación), es eficiente en la identificación de las bases genéticas que subyacen a las enfermedades (Kato, 2015; Ng et al., 2009).

Tras los numerosos intentos fallidos por identificar de forma robusta *loci* genéticos que contribuyan a la etiopatología de la DM, por fin tanto esfuerzo ha empezado a dar sus frutos. En un trabajo publicado recientemente en la revista *Nature*, gracias a una aproximación por secuenciación de genoma completo de baja cobertura, científicos pertenecientes al consorcio CONVERGE (*China, Oxford and Virginia Commonwealth University Experimental Research on Genetic Epidemiology consortium*) han identificado, y replicado en una muestra independiente, dos *loci* que contribuyen a aumentar el riesgo para DM. Ambas variantes se localizan en el cromosoma 10: una cerca del gen *SIRT1* y otra en un intrón del gen *LHPP* (CONVERGE consortium, 2015).

Además de por la tecnología empleada, el éxito de este estudio puede deberse también al empleo de muestras donde se intentaba minimizar la heterogeneidad, tanto fenotípica como genética (Rivera & McGuffin, 2015).

Los resultados de este estudio animan a seguir trabajando por este camino, pero también a explorar nuevas vías de investigación para tratar de esclarecer la contribución genética a la DM (interacción gen-gen,  $G \times E$ , *pathway analysis*).

### **3.3.3. Interacción genético-ambiental y riesgo de depresión**

Siendo conscientes de la compleja etiología de la DM, la investigación actual cada vez presta más atención a las relaciones entre múltiples genes y factores ambientales, lo que se conoce como interacción  $G \times E$ .

La interacción  $G \times E$  es una aproximación que nace de dos observaciones, que los trastornos mentales tienen causas ambientales y que las personas muestran heterogeneidad en su respuesta a esas causas. Por tanto, los estudios de  $G \times E$  tienen como objetivo detectar si existen influencias genéticas que afecten a las



diferencias individuales en respuesta al ambiente (McGuffin & Rivera, 2015). La diferencia principal con el resto de aproximaciones de estudio es que se asume que son patógenos ambientales los que causan el trastorno, mientras que los genes influyen en la susceptibilidad a estos patógenos. Esta hipótesis también está siendo estudiada en otras patologías como el cáncer y la diabetes (Caspi & Moffitt, 2006).

Se trata de una estrategia que está bastante de actualidad y tiene especial importancia ya que, como dijeron Moffitt et al., sin la aproximación genético-ambiental, la conexión de cada gen con la enfermedad podría haberse anulado de forma errónea (Moffitt, Caspi, & Rutter, 2005). Aunque este tipo de estudios son relativamente nuevos en psiquiatría, hay hallazgos particularmente interesantes, bastante literatura acerca de los efectos de la interacción G×E sobre diversos trastornos, así como sobre diversos métodos o mecanismos de búsqueda de interacciones G×E (estudios de genética clásica, de epigenética, modelos animales, fMRI).

Las primeras evidencias de interacción G×E sobre comportamiento fueron reportadas en un par de artículos publicados en 2002 y 2003 por Caspi et al. En ambos se analizaron de forma prospectiva y longitudinal datos de una cohorte de nacimiento de Dunedin, Nueva Zelanda. Se comenzó con más de 1000 individuos que fueron seguidos durante más de 30 años. En el artículo de 2002 se reporta que un polimorfismo funcional en el gen *MAOA* moderaba el efecto del maltrato infantil en algunas alteraciones conductuales que debutan en la edad adulta. Los niños maltratados cuyo genotipo confería bajos niveles de expresión de *MAOA*, desarrollaban más frecuentemente trastornos de la conducta, personalidad antisocial y crímenes violentos en la edad adulta que aquellos niños con el genotipo *MAOA* de alta actividad (Caspi et al., 2002). En el artículo de 2003 se reporta que un polimorfismo funcional en el promotor del gen *SLC6A4* (5-HTTLPR) moderaba la influencia de los AVEs en la depresión. Individuos con una o dos copias del alelo S manifestaban más síntomas depresivos, depresión diagnosticable y tendencias suicidas tras sufrir AVEs que los individuos con dos copias del alelo L (Caspi et al., 2003).

Como se ha visto, estos dos genes clave en la transmisión serotoninérgica están asociados a distintas patologías mentales. Estas fuertes asociaciones también han sido encontradas por grupos independientes al de Caspi (R Uher & McGuffin, 2010; van Ijzendoorn, Belsky, & Bakermans-Kranenburg, 2012). Destacamos un reciente metaanálisis (Karg, Burmeister, Shedden, & Sen, 2011) donde se replican los hallazgos de Caspi et al., (2003), y el estudio de Cervilla et al. (2007; 2006) donde también se replican, en este caso por primera vez en población española. Sin embargo, algunos estudios (Levinson, 2006) y metaanálisis (Munafò, Durrant, Lewis, & Flint, 2009; Risch et al., 2009) no consiguieron replicar la interacción entre el 5-HTTLPR y el ambiente.

Algunas interacciones G×E han sido confirmadas mientras que otras no han podido ser replicadas. En el caso del polimorfismo 5-HTTLPR, se ha reportado que modera el efecto del maltrato infantil sobre la depresión crónica en adultos, pero que no influye sustancialmente en los efectos de los AVEs en el inicio de nuevos episodios depresivos (Uher, 2014). En contraste, el polimorfismo *BDNF* Val66Met parece jugar un papel clave en la modulación del impacto del estrés en el desarrollo de DM pero no influir en los efectos del maltrato infantil (Uher, 2014). En un metaanálisis llevado a cabo por Hosang et al. (2014), se mostraba que el efecto de los AVEs en DM está moderado significativamente por el polimorfismo *BDNF* Val66Met (Gutiérrez et al., 2015).

Los mecanismos moleculares que subyacen a las interacciones G×E se están esclareciendo poco a poco, incluyendo la metilación de ADN y otras modificaciones epigenéticas. Se están proponiendo nuevas estrategias que faciliten el descubrimiento de nuevas interacciones mediante análisis de genoma completo. Aunque la tecnología lleva tiempo disponible, aún no se ha realizado ningún estudio de interacción general entre genes y ambiente (GEWIS, *gene-environment-wide interaction studies*) en trastornos psiquiátricos (McGuffin & Rivera, 2015).

La comunidad científica aconseja además corroborar los resultados con trabajos en animales que investiguen los mecanismos moleculares de tal interacción (Alasaari et al., 2012; Caspi et al., 2010).

Este tipo de estudios, aunque muy adecuados, también presentan limitaciones, algunas generales y otras más específicas dependiendo del tipo de metodología empleada. En general, la investigación de las interacciones G×E es difícil por la limitación en el rango de factores ambientales que se pueden estudiar, así como la escasez de instrumentos para medirlos y de tamaño muestral; no obstante, una cosa es clara, se requieren verdaderas colaboraciones entre los ámbitos de las neurociencias y la genética (Caspi et al., 2010; Caspi & Moffitt, 2006; Dick, 2011; McGuffin & Rivera, 2015).

\* \* \* \* \*

Debido a la naturaleza de los trastornos psiquiátricos en general, y de la DM en particular, el peligro de centrar la atención en un único nivel es que es muy probable que se pierda gran cantidad de información (Hyman, 2000).

La ineficacia para obtener y replicar resultados sólidos en la búsqueda de las causas de la DM, en muchos casos puede deberse a diversos factores como el diseño del estudio, el pequeño tamaño de muestra o la estratificación de la misma, la poca exactitud en la definición del fenotipo, los criterios diagnósticos usados, la selección de los individuos de estudio para propósitos explícitos diferentes, o la coexistencia o comorbilidad de otros trastornos psiquiátricos y/o somáticos. De todas formas, el avance sigue su curso, la comunidad científica se ha hecho eco de tales limitaciones, y la mayoría de estos aspectos están siendo tenidos en cuenta e investigados (Mandelli & Serretti, 2013).

A pesar de que aún nos encontramos lejos de alcanzar esa posición privilegiada ante los problemas de salud mental, todos estos avances constituyen, sin duda, un buen comienzo.

*"No health without mental health"*

(Prince et al., 2007)

#### **4. Justificación de la presente tesis doctoral**

A pesar de su gran importancia, las enfermedades mentales son todavía grandes desconocidas debido en parte a la inaccesibilidad del cerebro. Nos enfrentamos a un órgano nada fácil de estudiar y de cuya fisiología normal poseemos escaso conocimiento. Por ello, no es sorprendente que resulte tan complicado el estudio de su anormal funcionamiento en este tipo de trastornos. Se une a este hecho la discutible validez de constructo de los diagnósticos psiquiátricos, que se basan en criterios arbitrarios y consensuados, dada la falta de pruebas diagnósticas objetivas y el desconocimiento de las causas últimas de dichos trastornos.

La OMS ha reportado que la carga global atribuible a los trastornos mentales ha aumentado casi un 40% entre los años 1990 y 2010, y que, además, constituyen la tercera causa de discapacidad en países desarrollados (Whiteford et al., 2015). Gran parte de esta carga es debida única y exclusivamente a la depresión, enfermedad que también se ha identificado como una de las principales causas de discapacidad en España (Lara et al., 2014) y en la que se centra la presente tesis doctoral.

Los trastornos mentales en general, y la depresión en particular, suponen un gran reto para la salud pública. Una de cada cuatro personas padece alguna enfermedad mental a lo largo de su vida, y a pesar de ello, no existía en Andalucía ningún estudio epidemiológico previo. Así, surgen los estudios GranadΣp y PISMA-ep, ambos con el objetivo principal de obtener información sobre las tasas reales de trastorno mental en la región (Granada y Andalucía respectivamente) e identificar posibles factores de riesgo, tanto genéticos como ambientales. La obtención de esta información constituye una herramienta valiosísima para la planificación y re-estructuración de los recursos de salud mental, así como para la identificación de objetivos de prevención de dichos trastornos.



## ***II. Hipótesis y objetivos***

---





## Hipótesis

Teniendo en cuenta los antecedentes expuestos en la Introducción, la hipótesis principal que guía la presente tesis es:

Determinados polimorfismos de genes candidatos implicados en procesos de neurodesarrollo y de plasticidad y regulación neuronal, así como genes implicados en las vías de neurotransmisión monoaminérgica, se asocian a un riesgo incrementado para sufrir depresión mayor.

En relación con la hipótesis de trabajo se establecieron los siguientes objetivos:

### Objetivos generales

- Analizar la variabilidad genética en genes que codifican para ciertos receptores y enzimas, y genes implicados en procesos de neurodesarrollo y de plasticidad y regulación neuronal en personas con depresión mayor y controles.
- Establecer perfiles genéticos de vulnerabilidad a depresión mayor.

### Objetivos específicos

1. Estudiar la asociación entre la depresión mayor y el polimorfismo 5-HTTLPR del gen *SLC6A4*, uno de los genes clave de la neurotransmisión monoaminérgica.
2. Estudiar la asociación entre la depresión mayor y el polimorfismo uMAOA del gen *MAOA*, uno de los genes clave de la neurotransmisión monoaminérgica.
3. Estudiar la asociación entre la depresión mayor y 91 polimorfismos candidatos de tipo puntual (tag SNPs) elegidos entre los más replicados en

### *Hipótesis y objetivos*

estudios previos de asociación genética en depresión, y entre aquellos descritos como sugerentes o claramente asociados a depresión en estudios previos de GWAS publicados entre los años 2010 y 2011.

### ***III. Muestra y métodos***

---



## 1. Contexto y diseño del estudio

Este trabajo se desarrolla en el contexto del estudio GranadaΣp, un estudio epidemiológico transversal basado en una muestra relativamente grande representativa de la población adulta que vive en la provincia de Granada. El GranadaΣp se diseñó como un estudio piloto independiente dentro de uno de mayor envergadura que se puso en marcha posteriormente en toda Andalucía (el estudio PISMA-ep). El estudio PISMA-ep es el primer estudio epidemiológico sobre trastornos de salud mental y sus factores asociados que se ha llevado a cabo en una muestra representativa de la población andaluza. El estudio se implementó en cada una de las ocho provincias que conforman Andalucía, la mayor de las comunidades autónomas españolas con casi nueve millones de habitantes, casi un quinto de la población total del país. Se trata de una iniciativa integrada en el Plan Integral de Salud Mental de Andalucía para obtener información útil en la planificación de servicios (Cervilla et al., 2015).

En ambos estudios, de diseño transversal, se usaron los mismos métodos de evaluación y se persiguieron los mismos objetivos principales: 1) Estimar la prevalencia-año y prevalencia-vida de los diferentes trastornos psiquiátricos en la población general andaluza; 2) Analizar la posible asociación de cada uno de tales trastornos con factores de riesgo genético, sociodemográfico y psicosocial; 3) Determinar la calidad de vida de las personas que padecen trastornos psiquiátricos; y 4) Evaluar las necesidades de atención sanitaria y tratamiento de las personas con este tipo de trastornos.

La presente tesis se centra en parte del objetivo número dos, la identificación de factores genéticos de riesgo que, solos o en interacción con factores de naturaleza ambiental, podrían estar asociados a la DM, uno de los trastornos mentales principales incluido en los estudios.

## **2. La muestra**

El estudio epidemiológico GranadΣp tiene como objetivo describir las tasas de prevalencia e incidencia de los distintos trastornos mentales en la provincia de Granada, así como identificar factores de riesgo asociados a dichos trastornos.

Se trata de un estudio transversal en el que se llevó a cabo un muestreo multietápico utilizando distintos niveles de estratificación, que se detallan más adelante, y en el que teníamos como diana entrevistar a 1,176 participantes (según cálculo de poder también descrito más adelante), seleccionados al azar y representativos de la provincia de Granada, utilizando un método de "llamada a la puerta".

Como ya se ha comentado anteriormente, el estudio GranadΣp fue concebido y desarrollado a modo de pilotaje de un estudio posterior, más ambicioso, realizado a nivel de toda Andalucía: el estudio PISMA-ep (Cervilla et al., 2015).

El trabajo de campo, la recogida de muestras y las entrevistas a los participantes se realizaron entre los meses de octubre de 2011 y diciembre de 2012 en la provincia de Granada. Los individuos participantes, con edades comprendidas entre los 18 y los 80 años, fueron seleccionados al azar a partir de la base de datos de usuarios del Sistema Andaluz de Salud (SAS), que se estima cubre el 98% de la población. Se excluyeron aquellos sujetos que estaban fuera del rango de edad, habían vivido menos de un año en la provincia de Granada, no eran capaces de comunicarse fluidamente en español, estaban demasiado enfermos para completar la entrevista, tenían un diagnóstico de demencia o retraso mental, vivían en una institución (hospital, prisión, etc.), se habían mudado o no vivían en la dirección proporcionada por la base de datos de usuarios del SAS, o tenían datos erróneos en dicha base de datos. Los participantes excluidos se reemplazaron con otros individuos de igual edad, sexo y localización.

La recogida de la muestra se realizó mediante un muestreo por conglomerados en dos etapas con estratificación de las unidades primarias de muestreo (UPM), dependiendo de si eran rurales o urbanas. La ruralidad se determinó según el índice de ruralidad de los municipios andaluces (Ocaña-Riola & Sánchez-Cantalejo,

2005). La media del índice de ruralidad para todos los municipios de Andalucía se tuvo en cuenta para hacer las distinciones entre municipios rurales y urbanos.

En la primera etapa se recogió la muestra en los municipios por muestreo por conglomerados con probabilidad proporcional al tamaño (PPT). Los *clusters* se seleccionaron con asignación proporcional en cada estrato. El número total de municipios seleccionados representaba aproximadamente el 15% del total de municipios en la provincia de Granada. En la segunda etapa los individuos que constituían la muestra se seleccionaron usando un muestreo aleatorio simple.

La aproximación se hizo puerta a puerta, tocando a una de cada cuatro casas consecutivas. Si, tras dos intentos, no había respuesta, se visitaba la casa en dos ocasiones más y a diferente hora del día. Si aún así seguía sin haber respuesta, el reemplazo se hacía siguiendo el mismo proceso en la casa de al lado en la ruta predeterminada. Se repetía el proceso hasta encontrar un participante apto. A la primera persona que abriera la puerta, si se encontraba dentro del rango de edad y la proporción de sexos acordada para la ruta, se le ofrecía participar en el estudio. Si esta rechazaba, la sustitución debía ser una persona de la siguiente casa disponible que tuviera la misma edad y sexo de la persona que rechazó.

En una etapa de pilotaje, se usaron las primeras entrevistas realizadas en cada uno de los municipios participantes de la provincia de Granada para revisar la idoneidad de las preguntas, el método de selección de la muestra y la disposición general a participar en el estudio genético donando una muestra de saliva. Tras esto, y para asegurar un correcto entendimiento, algunas preguntas fueron ligeramente modificadas para adaptarlas a la sociedad andaluza. Los cambios fueron aprobados por un panel de expertos en la materia para asegurar que no se produjeran alteraciones en la validez de los ítems.

Para poder estimar una prevalencia de trastorno mental del 2% con una precisión de  $\pm 0.8\%$  para un intervalo de confianza del 95% la muestra mínima necesaria se estimó en 1,176 participantes. Finalmente, fueron ochocientos nueve los participantes no institucionalizados de la población general de la provincia de Granada los que accedieron a formar parte del estudio. De estos, 743 accedieron a

donar, además, una muestra biológica en forma de saliva para futuros estudios genéticos.

Todos los participantes del estudio Granada $\Sigma$ p fueron evaluados para variables clínicas, psicológicas, socio-demográficas, de estilo de vida, estrés psicosocial, y otros aspectos ambientales. Los participantes que también accedieron a participar en el análisis genético facilitaron, además de su consentimiento escrito para ser incluidos en el estudio, un consentimiento informado específico para donar una muestra de saliva. Los individuos eran en su mayoría españoles con ascendencia española, aunque la nacionalidad española no era un criterio de inclusión y las personas procedentes de otros países europeos con ascendencia europea también fueron incluidas en el estudio genético.

### 3. Medidas

Se detallan a continuación las variables recogidas:

- Factores socio-demográficos (Índice de Barona): Se recogieron las variables socio-demográficas estandarizadas incluidas en las encuestas rutinarias. Se usó la versión española (Bilbao & Seisdedos, 2004) de la fórmula de Barona, Reynolds, & Chastain, (1984) para estimar el cociente intelectual (CI) de cada participante. Esta fórmula usa las variables socio-demográficas edad, sexo, nivel educativo, urbanicidad y región geográfica para estimar el CI.
- Historia psiquiátrica familiar (FIGS): Se usó una versión en español de la Entrevista Familiar para Estudios Genéticos (*The Family Interview for Genetic Studies*; FIGS) para recoger información diagnóstica sobre los familiares de cada participante (NIMH Genetic Initiative, 2005). La aplicación de este instrumento permite detectar casos psiquiátricos dentro de una familia, así como hacer una mejor estimación de los diagnósticos de depresión, manía, abuso de alcohol/drogas, psicosis o personalidad paranoide/esquizoide/esquizotípica.



- MINI: La Mini-Internacional Neuropsiquiátrica (MINI) es una entrevista corta y estructurada que proporciona diagnósticos DSM-IV y CIE-10 de los principales trastornos mentales del eje I (Sheehan et al., 1998).
- Experiencias traumáticas en la infancia: Usando la versión corta del cuestionario sobre trauma en la infancia (CTQ; *Childhood Trauma Questionnaire*, (Fink, Bernstein, Handelsman, Foote, & Lovejoy, 1995) se recogieron datos de tres tipos de maltrato que pudieron haber ocurrido en la infancia: abuso emocional, físico y sexual.
- Acontecimientos vitales estresantes (AVEs): Se utilizó una lista breve validada, con 12 categorías de AVEs que tenían que haber sucedido en los 6 meses anteriores a la entrevista y que supusieran un daño a largo plazo (Brugha, Bebbington, Tennant, & Hurry, 1985; Brugha & Cragg, 1990).
- Cuestionario de salud: El estado de salud general se valoró aplicando el cuestionario SF-12, un cuestionario reducido del SF-36 (*the 36 item short form health survey*) que proporciona información del estado de salud tanto físico como mental (Gandek et al., 1998; Jenkinson & Layte, 1997).
- Apoyo social: Se usó un inventario que mide lo que la persona piensa sobre el apoyo percibido proveniente de la familia y amigos (Blaxter, 1990).
- Consumo de tabaco (*Fagerström Test for Nicotine Dependence*): Se usó el test de Fagerström, el instrumento estándar para evaluar la intensidad de adicción física a la nicotina (Heatherton, Kozlowski, Frecker, & Fagerström, 1991). Este test está específicamente diseñado para proporcionar una medida de la dependencia de nicotina relacionada con el consumo de cigarrillos.
- Consumo de alcohol (*CAGE questionnaire for alcoholism*): Este cuestionario consiste en cuatro preguntas clínicas, fáciles de recordar, que se ha comprobado son útiles en el diagnóstico del alcoholismo (Ewing, 1984).
- SCIP (Pino et al., 2006): La *Screen for Cognitive Impairment in Psychiatry* (SCIP) es una herramienta breve diseñada para evaluar el deterioro

cognitivo que presentan los pacientes con patologías psiquiátricas, entre ellas muchos trastornos psicóticos y afectivos. La versión original es en inglés (Purdon, 2005), pero en nuestros estudios se usó la versión española (Pino et al., 2006).

- SCID-I/P: La *Structured Clinical Interview for DSM Disorders Axis I* (SCID-I), una entrevista semi-estructurada para detectar trastornos DSM del eje I (First, Spitzer, Gibbon, & Williams, 2002), se usó como herramienta de apoyo para el módulo de trastornos psicóticos de la MINI por considerarse este limitado.
- Funcionamiento global y social: El funcionamiento global se midió con la Evaluación Global del Funcionamiento (GAF; *Global Assessment of Functioning*, American Psychiatric Association, 2013), que mide la actividad general del paciente, el *Objective social outcomes index* (SIX, (Pribe, Watzke, Hansson, & Burns, 2008), que evalúa la funcionalidad, y la escala de Funcionamiento Personal y Social (PSP; *Personal and Social Performance Scale*, (Morosini, Magliano, Brambilla, Ugolini, & Pioli, 2000), que mide el funcionamiento social.
- *Standardised Assessment of Personality Abbreviated Scale* (SAPAS): La escala de Valoración Estandarizada de Personalidad (SAPAS) es una escala breve para el *screening* de trastorno de la personalidad DSM-IV. Su finalidad es generar una puntuación dimensional que representa la probabilidad de una persona de padecer un trastorno de personalidad (Moran et al., 2003).
- Neuroticismo e impulsividad: Se usaron las secciones apropiadas del cuestionario sobre personalidad Zuckerman-Kuhlman (ZKPO) para evaluar los rasgos de personalidad neuroticismo-ansiedad e impulsividad-búsqueda de sensaciones (Zuckerman, 2002).
- Cuestionario de condiciones médicas: Mediante una *checklist* estándar, se interroga sobre el padecimiento de 21 condiciones médicas como el asma, la diabetes y la hipertensión entre otras.

- Información de la medicación: Se valora usando una *checklist* estándar que incluye 16 medicamentos que se prescriben de forma frecuente, como antibióticos, analgésicos, vitaminas, anticonceptivos, antidepresivos, etc.
- Información del ejercicio: Valorada brevemente con tres preguntas referidas al tipo de ejercicio, la intensidad del mismo y el número de horas por semana.
- Medidas antropométricas: Se usan el peso y la altura auto-reportadas para el cálculo del Índice de Masa Corporal (IMC).
- Muestra biológica: Se recogió una muestra de saliva de cada participante con el kit Oragene (OG-500; DNA Genotek Inc, Ottawa, ON, Canada).

#### **4. Diagnóstico de depresión mayor**

Se utilizó la Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional MINI (Sheehan et al., 1998) para determinar los diagnósticos psiquiátricos en nuestra muestra. La variable dependiente utilizada en el presente trabajo fue el diagnóstico DSM-IV compatible con DM generado por la entrevista MINI. La prevalencia de DM se calculó usando la información de esta entrevista en la que los diagnósticos de los trastornos mentales fueron determinados por sus respuestas sobre los síntomas. Las entrevistas fueron realizadas por psicólogos entrenados y tuvieron lugar en el centro de atención primaria del participante o en su casa.

Esta entrevista genera diagnósticos DSM-IV y CIE-10 del eje I para 16 trastornos mentales. La MINI se divide en módulos que se identifican con letras que corresponden a diferentes categorías diagnósticas. Consiste en una o dos preguntas de *screening* que se hacen a todos los participantes al comienzo de cada sección diagnóstica. A todos los que respondían de forma positiva a estas preguntas, se les hacían todas las preguntas de la sección que guiaban a la constatación del diagnóstico específico de la misma. La entrevista MINI ha sido aplicada en diferentes culturas y ha mostrado tener buenas propiedades psicométricas en diferentes lenguas (Amorim et al., 1998; Kadri et al., 2005;

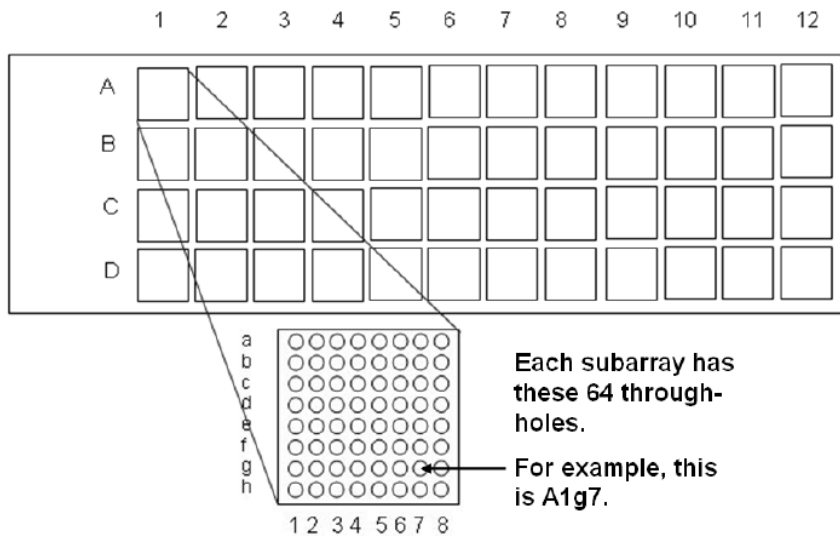
Otsubo et al., 2005; Rossi et al., 2004). También ha mostrado fiabilidad entre evaluadores y buena sensibilidad, ya que no genera demasiados falsos positivos en controles sanos (Sheehan et al., 1998).

## **5. Análisis genéticos**

### **Selección de SNPs y otros polimorfismos en genes candidatos**

Se seleccionaron 96 SNPs para su análisis en el estudio GranadaΣp. Estos SNPs fueron elegidos entre los más replicados en estudios previos de asociación genética en depresión y entre aquellos descritos como sugerentes o claramente asociados a depresión en estudios previos de GWAS publicados entre los años 2010 y 2011 (Kohli et al., 2011; Lewis et al., 2010; Muglia et al., 2010; Rietschel et al., 2010; Shi et al., 2011; Shyn et al., 2011; Sullivan et al., 2009). Escaneamos las bases de datos públicas para obtener información general sobre los genes y las variantes polimórficas de interés, incluyendo algún etiquetado de haplotipos y SNPs potencialmente funcionales, así como marcadores con frecuencia alélica menor (MAF) superior al 10% (MAF>0.1). Esta información fue entonces combinada y comparada con la lista de SNPs disponible en Illumina, Inc. (San Diego, CA, USA). Se diseñaron de manera “customizada” dos arrays de genotipado que en conjunto incluían estos 96 SNPs.

El chip de genotipado TaqMan® OpenArray™ es una placa del tamaño de un porta de microscopio (63 mm × 19 mm) con 3,072 *through-holes* donde puede llevarse a cabo un número equivalente de reacciones de forma simultánea. Cada *through-hole* está pre-cargado con un ensayo TaqMan® previamente diseñado. Como se muestra en la Figura 7, la placa TaqMan® OpenArray™ se divide en 48 subarrays, cada uno de los cuales contiene 64 *through-holes*.

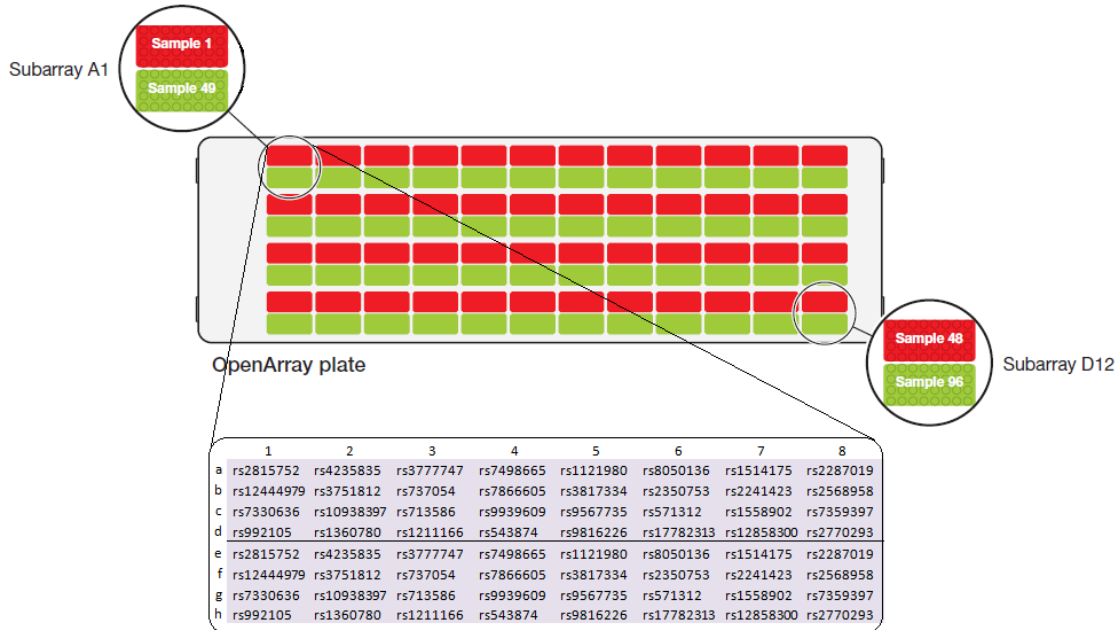
**Figura 7.** Placa TaqMan® OpenArray™.

Existen seis formatos de chip de genotipado TaqMan® OpenArray™ disponibles dependiendo del número de SNPs y muestras que se quieren genotipar. Para los SNPs de interés incluidos en nuestro estudio, decidimos diseñar dos arrays, uno con formato 32 y otro con formato 64 (Figura 8). El primero está pre-cargado con 32 ensayos y se pueden cargar hasta 96 muestras en cada array (dos muestras en cada subarray), y el segundo está pre-cargado con 64 ensayos y se pueden cargar hasta 48 muestras (una muestra por subarray).

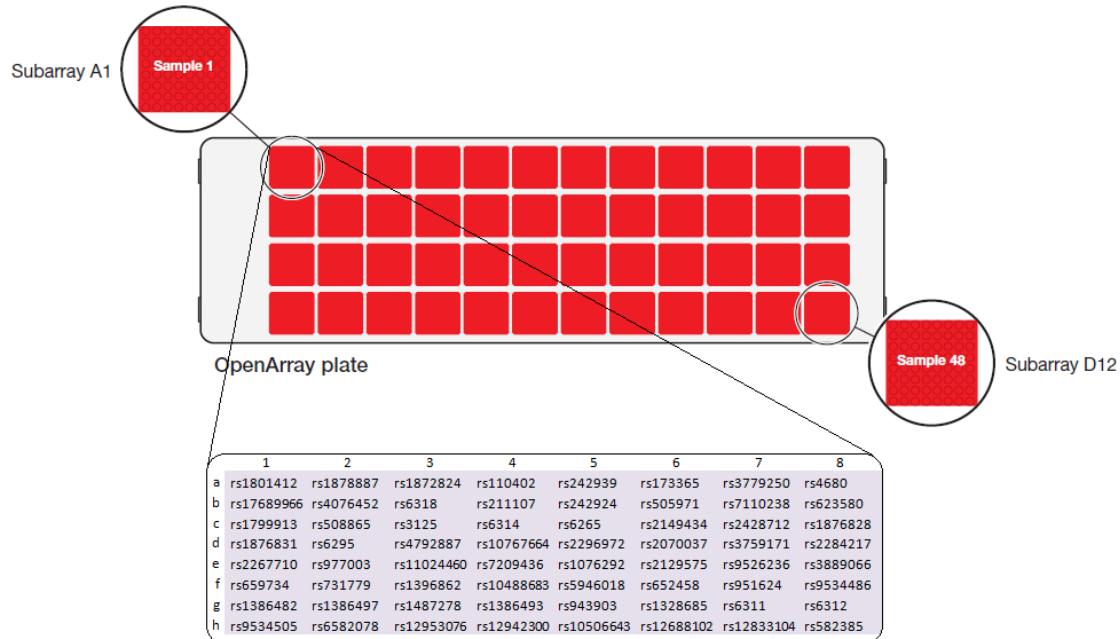
Además de estos polimorfismos, se seleccionaron también dos de los genes candidatos más relevantes en el campo de la psiquiatría genética, los genes *SLC6A4* y *MAOA* (Cohen-Woods et al., 2013).

**Figura 8.** Chips de genotipado TaqMan® OpenArray™ diseñados para el estudio GranadΣp.

**Formato 32**



**Formato 64**



## **Obtención de las muestras biológicas**

Para la obtención de la muestra biológica de cada participante se utilizó el kit de recolección de ADN a partir de saliva de Oragene (OG-500; DNA Genotek Inc, Ottawa, ON, Canada). Cada entrevistador, previamente entrenado en el uso del kit de recolección de la muestra, instruyó y guió al participante una vez que éste aceptó donar una muestra de saliva y firmó el consentimiento informado para tal efecto. Los entrevistadores se encargaron de custodiar las muestras hasta que éstas fueron recogidas y trasladadas al laboratorio de Genética Psiquiátrica del Centro de Investigación Biomédica de la Universidad de Granada, dirigido por la Dra. Blanca Gutiérrez. Allí fueron posteriormente registradas y procesadas.

## **Extracción del ADN y cuantificación**

La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando procedimientos estándar para el kit OG-500 (DNA Genotek Inc, Ottawa, ON, Canada). Se prepararon alícuotas madre para el almacenaje indefinido a  $-80^{\circ}\text{C}$ , y alícuotas de trabajo para el genotipado. La concentración de ADN se midió por absorbancia a 260nm usando el Infinite® M200 PRO multimode reader (Tecan US Inc, Research Triangle Park, NC, USA). Las concentraciones se normalizaron a 50 ng/ $\mu\text{l}$ .

## **Genotipado**

De forma general, el análisis de los polimorfismos propuestos en el estudio GranadΣp se llevó a cabo mediante técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (del inglés *polymerase chain reaction*). En algunos casos, como ocurrió en el análisis de los genes *SLC6A4* y *MAOA*, el genotipado se hizo por técnicas convencionales de amplificación por PCR y posterior electroforesis en geles de agarosa. En la mayoría, sin embargo, el genotipado se llevó a cabo de forma automatizada mediante tecnología de medio-alto rendimiento.

### ***Genotipado de 96 SNPs mediante array customizado***

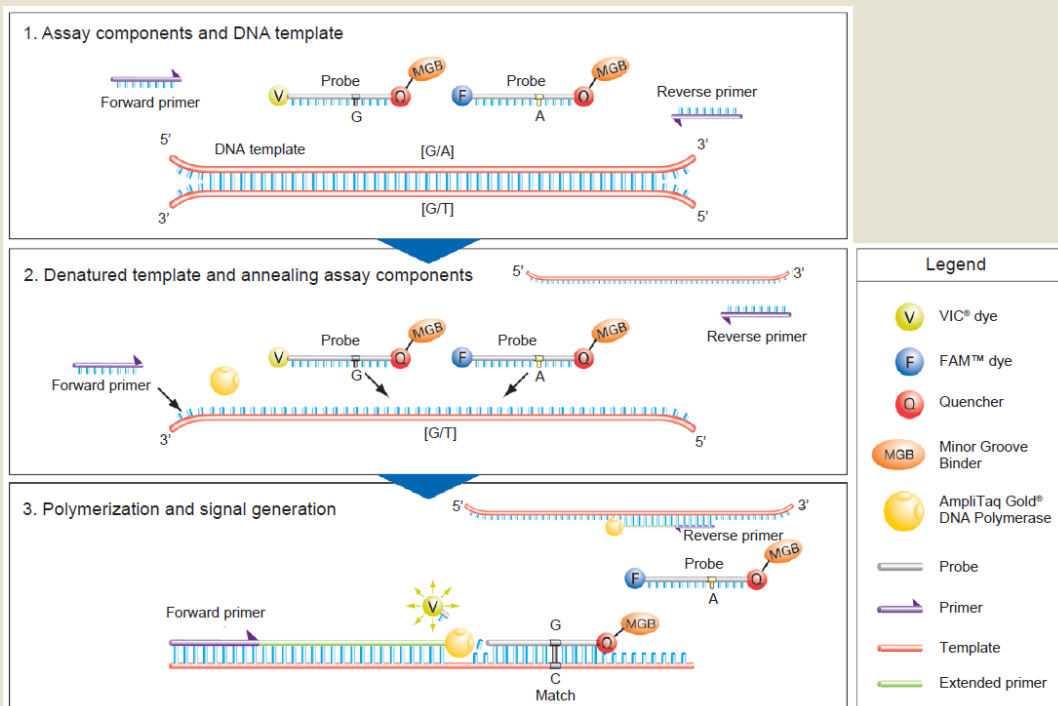
El genotipado se realizó con el sistema de genotipado TaqMan® OpenArray™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) siguiendo las instrucciones del

fabricante (Figura 9). El funcionamiento de este sistema de genotipado se explica más detalladamente en el Box 5.

### Box 5. ¿Cómo funciona un experimento de genotipado TaqMan®?

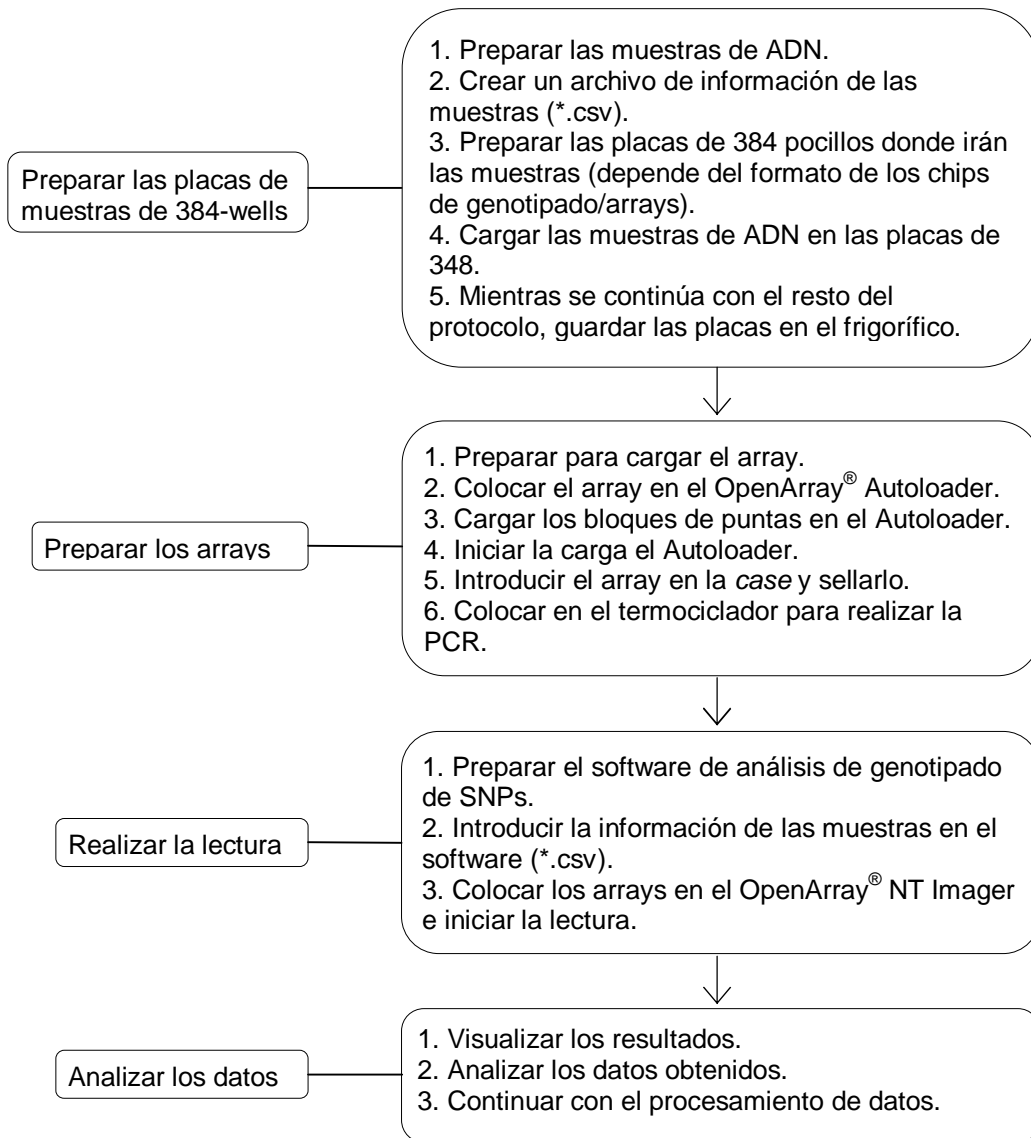
Un experimento de genotipado (también conocido como experimento de discriminación alélica) es un experimento a tiempo final usado para determinar el genotipo de muestras desconocidas gracias a técnicas de amplificación y fluorescencia. Con este tipo de experimento se pueden diferenciar dos alelos de un SNP. Se determina si las muestras son homocigotas o heterocigotas.

En un experimento de genotipado TaqMan®, la PCR incluye una sonda marcada con un fluorocromo diferente para cada alelo del SNP diana. Lo que se conocen como ensayos o *assays* están fijados y pre-cargados en el array. Cada ensayo contiene: i) Un marcador fluorescente en el extremo 5' de cada sonda; ii) Primers *forward* y *reverse*; iii) Un *minor groove binder* (MGB), una modificación que permite crear sondas más cortas ya que aumenta la temperatura de fusión ( $T_m$ ) de las mismas sin tener que aumentar su longitud. Esto favorece la precisión de genotipado; iv) Un *quencher* no fluorescente (NFQ) en el extremo 3' de la sonda, esto es, una molécula que absorbe la energía luminosa del fluorocromo cuando está próxima a él.





**Figura 9.** Workflow del genotipado con el equipo TaqMan® OpenArray™.



Los datos en crudo obtenidos fueron analizados con el software TaqMan Genotyper v1.2 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Se aplicaron estrictos criterios de control de calidad tanto para los SNPs como para los datos de los individuos. Se excluyeron los SNPs que presentaban una tasa de genotipos perdidos mayor del 1% o mostraron desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg ( $P < 0.01$ ). Los individuos con una tasa de datos genotípicos perdidos mayor del 10% o aquellos con ascendencia no europea también fueron excluidos de los análisis.

### **Genotipado del polimorfismo 5-HTTLPR del gen SLC6A4**

El polimorfismo 5-HTTLPR presente en el promotor del gen *SLC6A4* se analizó por técnicas convencionales de amplificación por PCR y posterior electroforesis. Como ya se ha visto previamente, este polimorfismo consiste en una inserción/delección de 44 pb y presenta dos variantes alélicas, una larga (528 o L) y otra corta (484 o S) (Lesch et al., 1996).

La PCR se llevó a cabo en un volumen total de 15  $\mu$ l que contenía:

<b>Reactivos</b>	<b>Volumen/muestra (<math>\mu</math>l)</b>
Buffer 10x	1.5
MgCl <sub>2</sub> (1.5 mM)	1.08
Primer <i>forward</i> (10 $\mu$ M)	1.5
Primer <i>reverse</i> (10 $\mu$ M)	1.5
Q solution	3
7-deaza-dGTP + dNTPs (0.2 mM)	1.5
Taq-Hot star polimerasa	0.2
H <sub>2</sub> O ultrapura	2.72
ADN	2

La amplificación del ADN genómico se realizó en un termociclador Biometra TProfessional Basic (Analytik Jena, Germany), y los primers usados fueron:

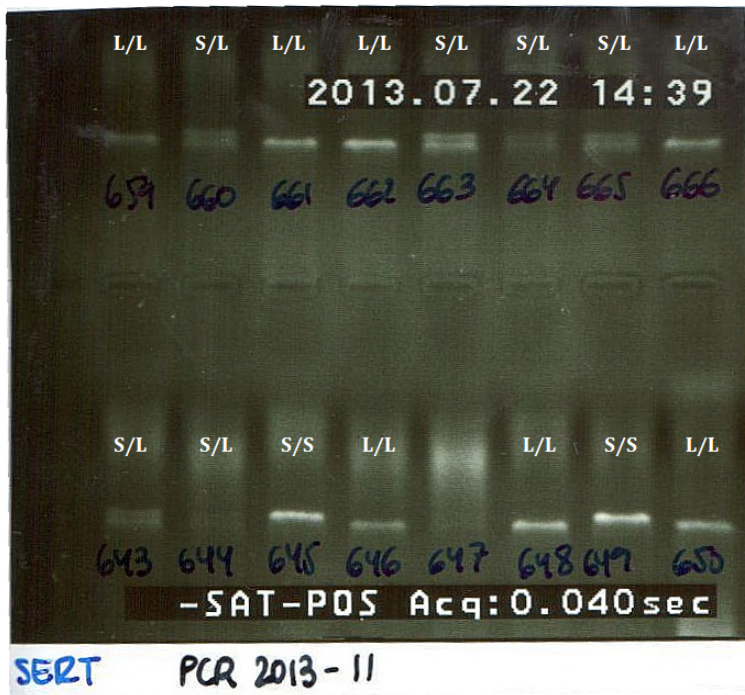
- *Forward*: 5'-GGC GTT GCC GCT CTG AAT GCC-3'
- *Reverse*: 5'-CAG GGG AGA TCC TGG GAG AGG T-3'

Las condiciones de amplificación fueron:

Desnaturalización inicial	95°C	5'	
Desnaturalización	95°C	30''	} x 45 ciclos
Hibridación	64°C	45''	
Elongación	72°C	1'	
Elongación final	72°C	10'	
Almacenaje	4 °C	∞	

Los productos de PCR fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% y visualizados con bromuro de etidio en un transiluminador de luz ultravioleta (UV) UVIDoc (Uvitec Cambridge, UK). Los individuos se clasificaron, según la longitud del fragmento producto de la amplificación, en homocigotos para el alelo corto (S/S) o largo (L/L) y heterocigotos (S/L) (Figura 10).

**Figura 10.** Genotipos del polimorfismo 5-HTTLPR en gel de agarosa.



### **Genotipado del polimorfismo uMAOA del gen MAOA**

El polimorfismo uMAOA presente en la región promotora del gen *MAOA* se genotipó por PCR y posterior electroforesis. El polimorfismo uMAOA es un minisatélite o VNTR compuesto por una secuencia repetida de 30 pb que puede estar presente en 2, 3, 3.5, 4, 5 o 6 copias (Sabol et al., 1998). Los alelos más comunes son el 2 (179 pb), el 3 (209 pb), el 3.5 (224 pb), el 4 (239 pb) y el 5 (269 pb). Como se ha visto, este polimorfismo se encuentra en el cromosoma X, por lo tanto los hombres son hemizigotos.

La PCR se llevó a cabo en un volumen total de 15 µl que contenía:

<b>Reactivos</b>	<b>Volumen/muestra (µl)</b>
Buffer 10x	1.5
MgCl <sub>2</sub> (1.5 mM)	0.9
Primer <i>forward</i> (10 µM)	1.5
Primer <i>reverse</i> (10 µM)	1.5
Q solution	3
dNTPs (250 µM)	0.4
Taq polimerasa	0.2
H <sub>2</sub> O ultrapura	5
ADN	1

La amplificación del ADN genómico se realizó en un termociclador FlexCycler (Analytik Jena, Germany), y los primers usados fueron:

- *Forward*: 5'-ACA GCC TGA CCG TGG AGA AG-3'

- *Reverse*: 5'-GAA CGG ACG CTC CAT TCG GA-3'

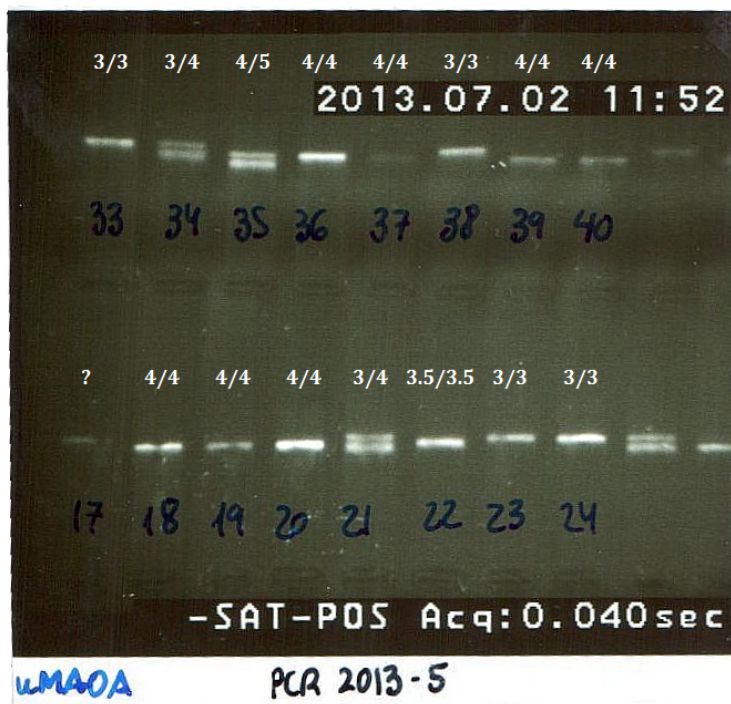
Las condiciones de amplificación fueron:

Desnaturalización inicial	94°C	2'	} x 30 ciclos
Desnaturalización	94°C	1'	
Hibridación	66°C	1'	
Elongación	72°C	1'	
Elongación final	72°C	10'	
Almacenaje	4 °C	∞	

Los productos de PCR fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 3% y visualizados con bromuro de etidio en un transiluminador de luz UV UVIdoc (Uvitec Cambridge, UK).

Para este estudio, y siguiendo las sugerencias de trabajos previos (Deckert et al., 1999; Gutiérrez et al., 2004), los alelos se clasificaron en dos grupos, alelos de baja actividad (3) y alelos de alta actividad (3.5; 4; 5). También se clasificaron los individuos en homocigotos para el alelo de baja actividad (3/3) y portadores de alelos de alta actividad (es decir, homocigotos para alelos de alta actividad (3.5/3.5; 4/4; 5/5) y heterocigotos) (Figura 11).

**Figura 11.** Genotipos del polimorfismo uMAOA en gel de agarosa.



## 6. Análisis estadísticos

### Análisis descriptivo

Los análisis descriptivos, incluyendo los valores de frecuencias y medias de cada una de las variables de estudio, se realizaron con el paquete estadístico SPSS

20.0. Las variables sociodemográficas y clínicas estudiadas fueron: sexo, edad, lugar de residencia, educación, estado civil, situación laboral y prevalencia de DM.

## **Análisis de asociación genética**

### ***96 SNPs incluidos en el array customizado***

Todos los análisis referentes a los 96 SNPs de estudio fueron realizados con el programa Plink (<http://pngu.mgh.harvard.edu/Purcell/plink/>). Se trata de un conjunto de herramientas de *software* libre para el análisis de GWAS. Está diseñado para realizar análisis básicos de datos genotípicos y fenotípicos a gran escala y de manera computacionalmente eficiente (Purcell et al., 2007).

Antes de realizar los análisis de asociación, se realizó un control de calidad aplicando criterios estrictos tanto a los datos de los SNPs como a los de los individuos:

- Tasa de perdidos por persona: se excluyen aquellos individuos con demasiados genotipos perdidos. En nuestro estudio, se excluyeron los individuos con más del 10% de los genotipos perdidos.

*Missingness per individual* (`--mind 0.1`)

- Tasa de perdidos por SNP: se excluyen SNPs en base a la tasa de genotipos perdidos. En nuestro estudio, se incluyen solo aquellos SNPs con al menos un 90% de tasa de genotipado (10% perdidos).

*Missingness per marker* (`--geno 0.1`)

- Equilibrio de Hardy-Weinberg: se excluyen aquellos marcadores que fallen el test de Hardy-Weinberg a un nivel de significación especificado, es decir, los SNPs que muestren desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg. En nuestro estudio, el nivel de significación se fijó al 1% ( $P < 0.01$ ). Se calculó el equilibrio de Hardy-Weinberg en la totalidad de la muestra, y en casos y controles por separado.

*Hardy-Weinberg equilibrium* (`--hwe 0.01`)

En plink se utilizaron los comandos:

```
C:\plink-1.07-dos>plink --file mydata --mind 0.1 --geno 0.1 --hwe 0.01
```

Para estimar la asociación entre DM y los SNPs analizados se asumió un modelo genético aditivo (es decir, efectos aditivos de los SNPs) y se utilizó una regresión logística en la muestra completa. Obtuvimos los resultados en términos de riesgo relativo, ORs, una forma de expresar cuántas veces es más probable padecer una enfermedad si se porta el marcador estudiado que si no se porta. Al añadir el comando `--ci 0.95` obtenemos también los intervalos de confianza del 95% para los parámetros estimados.

En plink se utilizaron los comandos:

```
C:\plink-1.07-dos>plink --file mydata --logistic --ci 0.95 --out mydata_logassoc
```

### ***Polimorfismo 5-HTTLPR del gen SLC6A4***

Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS 20.0. Se verificó el equilibrio de Hardy-Weinberg, tanto en la muestra completa como en los controles, usando la prueba chi-cuadrado de las frecuencias genotípicas.

Se utilizaron pruebas chi-cuadrado para explorar las asociaciones univariantes entre DM y las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo 5-HTTLPR. Las ORs e IC del 95% se calcularon usando una regresión logística binaria para comparar frecuencias genotípicas entre casos y controles. Se utilizó también una regresión logística binaria para ajustar las asociaciones por los posibles efectos confusores de edad y sexo.

### ***Polimorfismo uMAOA del gen MAOA***

Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS 20.0. Se verificó el equilibrio de Hardy-Weinberg, tanto en la muestra completa como en los controles, usando la prueba chi-cuadrado de las frecuencias genotípicas.

Se utilizaron pruebas chi-cuadrado para explorar las asociaciones univariantes entre DM y las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo uMAOA. Dado

que este polimorfismo se encuentra en el cromosoma X, además de en la muestra completa, los datos se analizaron por separado en hombres y mujeres. Las ORs e IC del 95% se calcularon usando una regresión logística binaria para comparar frecuencias genotípicas entre casos y controles. Se utilizó también una regresión logística binaria para ajustar las asociaciones por los posibles efectos confusores de edad y/o sexo, cuando era conveniente.

### **Corrección por comparación múltiple**

En genómica y otros campos relacionados con la biología donde se suele contar con gran cantidad de datos, no es nada inusual que tengan que testarse muchas hipótesis de forma simultánea. Extraer conclusiones válidas a partir de un experimento normalmente requiere asociar unas medidas de confianza estadísticas con los datos observados; estas medidas pueden darse en forma de p-valores. Cuanto mayor sea la cantidad de hipótesis a testar, mayor será la probabilidad de considerar significativos algunos resultados simplemente por azar. Por tanto, estos p-valores han de ajustarse apropiadamente por el número de tests realizados, lo que normalmente es equiparable a controlar la tasa de error tipo I (falsos positivos). Habitualmente se usan estrategias que minimizan el número de tests realizados (Noble, 2009).

En nuestro caso, para corregir por comparaciones múltiples se utilizó el método *single nucleotide polymorphism spectral decomposition* (SNPSpD), que corrige por la no independencia de los SNPs en desequilibrio de ligamiento. Se basa en la descomposición espectral de matrices de parejas de desequilibrio de ligamiento entre SNPs. Supone una alternativa útil a los tests de permutaciones más computacionalmente intensivos, además de poseer una interfaz muy intuitiva disponible de forma online (<http://genepi.qimr.edu.au/general/daleN/SNPSpD/>) (Nyholt, 2004).

### **Análisis haplotípico**

Las frecuencias haplotípicas se estimaron usando el algoritmo E-M estándar y se realizaron pruebas simples de asociación basadas en la distribución de un conjunto probabilísticamente inferido de haplotipos en individuos con DM y



controles. Se establecieron dos haplotipos para analizar y se calcularon las ORs e ICs del 95% específicos de cada haplotipo. Para los análisis de asociación de los haplotipos, el nivel de significación estadística se estableció en  $P < 0.05$ .

En plink se utilizaron los comandos:

```
C:\plink-1.07-dos>plink --file mydata --hap mydata_3SNPs.hlist -  
-hap-assoc --out mydata_3SNPs_haplotype
```

```
C:\plink-1.07-dos>plink --file mydata --hap mydata_5SNPs.hlist -  
-hap-assoc --out mydata_5SNPs_haplotype
```

### **Poder muestral**

El poder estadístico se calculó usando el software QUANTO v.1.2.4 (<http://hydra.usc.edu/gxe/>). De acuerdo con tales cálculos, necesitábamos al menos 67 casos y 505 controles para detectar un efecto genético en un rango de 2 y 5 con un poder entre el 50% y el 80% (intervalo de confianza de  $P < 0.01$ ) si asumíamos un modelo genético aditivo, un riesgo de depresión del 0.15 y una frecuencia de los alelos de alto riesgo que oscilara desde 0.10 a 0.50. El poder de nuestra muestra aumentaba hasta el 80% si considerábamos un intervalo de confianza convencional de  $P < 0.05$  y manteníamos el resto de ajustes como se describen arriba (tamaño del efecto esperado entre 2 y 5, prevalencia de depresión fijada al 15% y frecuencias alélicas entre 0.10 y 0.50).



## ***IV. Resultados***

---



***Genetic association analyses  
between 5-HTTLPR, uMAOA  
and major depression***

---



## Resumen

---

**Antecedentes:** Los estudios de genética clásica han aportado evidencias sobre la vulnerabilidad genética a la depresión mayor (DM), pero estudios y metaanálisis anteriores de asociación entre genes candidatos implicados en rutas biológicas de las monoaminas y la DM han arrojado resultados inconsistentes. En el contexto del estudio GranadΣp, nos centramos en las posibles asociaciones entre la DM y los polimorfismos funcionales 5-HTTLPR y uMAOA.

**Métodos:** Un total de 611 individuos para el 5-HTTLPR, y 604 para el uMAOA fueron incluidos en los análisis. Todos los participantes fueron extensamente evaluados para variables clínicas, psicológicas, socio-demográficas, de estilo de vida y otros factores ambientales. Además, se recogió una muestra biológica para su posterior análisis genético en los genes candidatos, *SLC6A4* y *MAOA*. Se usó el diagnóstico *DSM-IV* de DM como variable resultado. Se usaron pruebas chi-cuadrado para comparar las frecuencias alélicas y genotípicas entre casos y controles. Las ORs con IC del 95% se calcularon usando análisis de regresión logística binaria. Los posibles efectos confusores de edad y/o sexo se examinaron usando una regresión logística binaria.

**Resultados:** Encontramos mayor frecuencia de portadores del alelo S (5-HTTLPR) en casos que en controles (82% vs. 75%;  $P=0.194$ ). El genotipo del 5-HTTLPR mostró tendencia hacia la asociación con DM ( $P=0.078$ ), sin embargo, la DM no se asoció con el genotipo S/S ( $P=0.183$ ). En el uMAOA, los alelos y genotipos de alta actividad no se encontraron asociados de forma significativa con DM ni en hombres ni en mujeres. No obstante, los genotipos de alta actividad se encontraron con más frecuencia en casos que en controles, en ambos sexos. Los análisis en la muestra completa mostraron una tendencia hacia la asociación entre DM y los genotipos de alta actividad (OR=1.83; CI: 0.94–3.59;  $P=0.074$ ). Los resultados permanecieron igual tras el ajuste de las asociaciones por edad y/o sexo.

**Conclusión:** Nuestros datos no replicaron las asociaciones previamente reportadas entre 5-HTTLPR y uMAOA con DM, quizás debido a un insuficiente poder estadístico. La validación en muestras independientes es crucial, así como estudios futuros que incluyan muestras mayores con fenotipos mejor definidos, y que tengan en cuenta la interacción con otros genes y ambiental.





## Abstract

---

**Background:** Classical genetic studies have shown evidence for a genetic vulnerability to major depressive disorder (MDD), but previous studies and meta-analyses exploring the association between candidate genes related to monoamine pathways, and MDD have yielded inconclusive results. In the context of the Granada study, we focused on the possible associations between the 5-HTTLPR and uMAOA functional polymorphisms and MDD.

**Methods:** A total of 611 individuals for the 5-HTTLPR, and 604 for the uMAOA were included in the analyses. All individuals were extensively assessed for clinical, psychological, socio-demographic, life style and other environmental variables. A biological sample was also collected for subsequent genetic analyses in the candidate genes, *SLC6A4* and *MAOA*. DSM-IV diagnosis of MDD was used as the outcome variable. Chi-square tests were used to compare genotype and allele frequencies between cases and controls. ORs with 95% CI were calculated using binary logistic regression analyses. The potential confounding effects of age and/or sex were taken into account using binary logistic regression analysis.

**Results:** For the 5-HTTLPR polymorphism, the S allele was found to be more frequent in cases than in controls (82% vs. 75%;  $P=0.194$ ). 5-HTTLPR genotype showed a suggestive trend for association with MDD ( $P=0.078$ ), however, MDD was not associated with the 5-HTTLPR S/S genotype ( $P=0.183$ ). For the uMAOA polymorphism, both high-activity alleles and genotypes were not significantly associated with MDD either in females or males. Nevertheless, high-activity genotypes were more frequent in cases than in controls, both in males and females. Analysis in the entire sample showed a suggestive trend for association between MDD and high-activity genotypes (OR=1.83; CI: 0.94–3.59;  $P=0.074$ ). Adjusting all association analyses for age and/or sex, as appropriate, did not alter the results reported.

**Conclusion:** Our data failed to replicate the previously reported 5-HTTLPR and uMAOA associations with MDD, maybe due to insufficient sample size power. Confirmation in independent samples is crucial, and future studies will require larger samples with reliably defined phenotypes, and taking the gene and environment interaction into account.



## 1. Introduction

In spite of the enormous burden that major depressive disorder (MDD) poses to our society, the causal mechanisms underlying such illness are yet to be identified (Flint & Kendler, 2014; Whiteford et al., 2015). Classical genetic studies have shown evidence for a genetic vulnerability to MDD, however, unlike other medical and mental conditions, significant findings are still sparse (Sullivan et al., 2012).

Based on the mode of action of tricyclic antidepressants (TCAs) and selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), most of the research in the field of depression has focused in targeting specific genes relevant to monoamine synthesis and transport (Palazidou, 2012; Serretti et al., 2007).

The serotonin transporter gene (*SLC6A4*) has a key role in serotonergic neurotransmission, and its product is the main target for most antidepressant drugs (Ramamoorthy et al., 1993). One of the most renowned polymorphism described in that gene is the serotonin-transporter-linked polymorphic region, 5-HTTLPR, a functional 44-bp insertion/deletion in the promoter region which influences the transcriptional efficiency of the gene. It can result in long and short alleles (L and S) associated with differential 5-HTT expression and 5-HT reuptake in the neuron. The S allele reduces the transcription of the *SLC6A4* gene, resulting in a decreased serotonin transporter expression and a less efficient 5-HT reuptake (Lesch et al., 1996).

The 5-HTTLPR polymorphism has been the focus of numerous studies exploring the relationship between genes and affective disorders (Caspi et al., 2010). Studies investigating the implication of this polymorphism in response to pharmacological treatment have shown that individuals homozygous for the L allele benefited more from drugs blocking 5-HT reuptake than individuals without the L allele (Serretti & Artioli, 2004; Serretti et al., 2011). Polymorphism variants have also been associated with differential remission rates after treatment with SSRIs (Serretti et al., 2007). The S allele has been shown to be associated with a

higher vulnerability to MDD, but despite the amount of studies and meta-analyses carried out, investigations of the association between the 5-HTTLPR polymorphism and MDD have yielded conflicting results (Flint & Kendler, 2014). Some meta-analyses showed a higher risk for depression among S/S individuals (Furlong et al., 1998; López-León et al., 2008; Lotrich & Pollock, 2004), whereas others did not show such association (Anguelova et al., 2003; Willis-Owen et al., 2005). Furthermore, the 5-HTTLPR genotype has been shown to modulate the effect of environmental adversity on the risk for MDD (Caspi et al., 2003; Cervilla et al., 2007; Karg et al., 2011; Uher & McGuffin, 2010; van Ijzendoorn et al., 2012).

The monoamine oxidase A gene (*MAOA*) has a crucial role in the degradation of monoamines such as serotonin and noradrenaline. The appropriate regulation of these neurotransmitters is important for the maintenance of normal mental state, and variation in their levels is considered one of the neurobiological mechanism involved in the etiology of MDD (Shih & Chen, 2004; Youdim & Bakhle, 2006). Moreover, MAO inhibitors are a recognized pharmacological strategy for treating MDD (Voltas et al., 2015). One of the most widely studied polymorphism in that gene, the MAOA-uVNTR, consists of a variable number of tandem repeats in the promoter region which influences the transcriptional efficiency (Aklillu et al., 2009). It has different alleles depending on the amount of times a 30-bp sequence is repeated. These alleles are associated with differential activity, precisely, allele 3 seems to be related to lower gene activity whereas alleles 3.5, 4 and 5 seem to be associated with higher gene activity (Guo et al., 2008; Haberstick et al., 2014; Sabol et al., 1998).

The uMAOA polymorphism has been extensively investigated in relation to various mental health problems including MDD (Liu, Huang, Luo, Wu, & Li, 2015; Lung et al., 2011; Rivera et al., 2009). In general, high-activity alleles and homozygous genotypes for high-activity alleles have been reported to increase the risk for MDD, specially in women (Rivera et al., 2009; Schulze et al., 2000; Yu et al., 2005), and MDD subtypes (Gutiérrez et al., 2004). However, many studies did not find such association between the uMAOA polymorphism and affective disorders or MDD specifically (Christiansen et al., 2007). There has also been one study that reported a contradictory association between depressive symptoms and the low-

activity allele (Brummett et al., 2007). Furthermore, the uMAOA low-activity variant has been consistently associated with behavioral disorder and antisocial behavior in men exposed to environmental adversity (Caspi et al., 2002; Frazzetto et al., 2007; Kim-Cohen et al., 2006; Nilsson et al., 2015; Widom & Brzustowicz, 2006).

The lack of conclusive results highlights the need to further investigate the potential association between the 5-HTTLPR and uMAOA polymorphisms and MDD to try to shed some light to the underlying genetic architecture of the illness. The current study uses the sample of a cross-sectional survey of major psychiatric disorders and risk factors in the province of Granada (south of Spain), the GranadΣp study (Cervilla et al., 2015). Our aim was to explore the associations between the 5-HTTLPR and uMAOA polymorphisms and MDD in a well-characterized community-based Spanish population.

## **2. Materials and methods**

### **Study design**

The GranadΣp study is a cross-sectional epidemiological study based on a relatively large sample representative of the adult population living in the province of Granada (southern Spain). This study was approved by the relevant research ethic committees. A description of the study design and its method has been previously reported elsewhere (for further information, please see Chapter III and Cervilla et al., 2015). In brief, the GranadΣp study is a cross-sectional survey aiming to establish the prevalence of major psychiatric disorders in the province of Granada, and to identify genetic and environmental risk factors for such conditions.

### **The sample**

All participants in this study were randomly selected from the Andalusian Health Service users database. All living individuals aged 18–80 were asked to participate between October 2011 and December 2012. Participants were

excluded according to the exclusion criteria described in Chapter III. Participants were assessed for clinical, psychological, sociodemographic, life style, and other environmental variables. Individuals who also agreed to participate in the genetic analysis were requested to give specific informed consent, and provided a biological sample.

### **SLC6A4 genotyping**

DNA from saliva was obtained by standard procedures. The 5-HTTLPR polymorphism in the promoter region of the *SLC6A4* gene was genotyped in all samples. Polymerase chain reaction (PCR)-amplification was performed using 100 ng of genomic DNA, 10  $\mu$ M of each primer (forward: 5'-GGC GTT GCC GCT CTG AAT GCC-3' and reverse: 5'-CAG GGG AGA TCC TGG GAG AGG T-3'), 200  $\mu$ M dNTPs (dGTP/7-deaza-2'-dGTP = 1/1), 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, and 0.3 units of Taq DNA polymerase in a total volume of 15  $\mu$ l. The samples were preheated to 95°C for 5 min, followed by 45 cycles of denaturation at 95°C for 30 sec, annealing at 64°C for 45 sec, and extension at 72°C for 1 min, and a final extension step of 10 min at 72°C. The PCR products were then separated by electrophoresis on a 2% agarose gel and visualized by ethidium bromide staining.

Data quality was assured by re-genotyping 5% of the samples. Individuals with missing genotypic data or those with a non-European ancestry were excluded.

After quality control procedures, 611 individuals were finally included in the analyses for the 5-HTTLPR polymorphism.

### **MAOA genotyping and classifying**

DNA from saliva was obtained by standard procedures. The uMAOA polymorphism in the promoter region of the *MAOA* gene was genotyped in all samples. Polymerase chain reaction (PCR)-amplification was performed using 50 ng of genomic DNA, 10  $\mu$ M of each primer (forward: 5'-ACA GCC TGA CCG TGG AGA AG-3' and reverse: 5'-GAA CGG ACG CTC CAT TCG GA-3'), 250  $\mu$ M dNTPs, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, and 0.2 units of Taq DNA polymerase in a total volume of 15  $\mu$ l. The samples were preheated to 94°C for 2 min, followed by 30 cycles of denaturation at 94°C for 1 min, annealing at 66°C for 1 min, and extension

at 72°C for 1 min, and a final extension step of 10 min at 72°C. The PCR products were then separated by electrophoresis on a 3% agarose gel and visualized by ethidium bromide staining.

For the purpose of this study, and as suggested by previous authors (Deckert et al., 1999; Gutiérrez et al., 2004; Rivera et al., 2009), alleles were classified into two groups, that is, low-activity alleles (three copies of the 30-bp repeat sequence) and high-activity alleles (3.5, 4 or 5 repeats). Participants were also divided into homozygous for low-activity alleles (3/3) vs carriers of high-activity alleles (i.e., either homozygous (3.5/3.5; 4/4; 5/5) or heterozygous for high-activity alleles).

Data quality was assured by re-genotyping 5% of the samples. Individuals with missing genotypic data or those with a non-European ancestry were excluded.

After quality control procedures, 604 individuals were finally included in the analyses for the uMAOA polymorphism.

### **Characterization of major depressive disorder**

Psychiatric diagnoses in our sample were ascertained using the depression section of the Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI) (Sheehan et al., 1998). The MINI was administered by professionally trained psychologists, and took place either in the participant's local primary health care center or in their homes. A *DSM-IV* compatible diagnosis of MDD, generated from the MINI interview, was used as the outcome variable in this study.

### **Statistical analysis**

The data were analyzed using the SPSS 20.0 statistical package. Hardy-Weinberg equilibrium was checked by using the chi-square test of the genotypic frequencies. Descriptive analyses including frequencies and mean values of all independent variables were also calculated.

Univariate associations were explored using chi-square tests to compare genotype and allele frequencies between those with and without depressive outcome (MDD). Provided that uMAOA polymorphism is on the X chromosome, we

explored statistically all associations in the whole sample, and also among men or women separately. ORs with 95% CI for MDD were calculated using binary logistic regression analyses to compare genotype frequencies among cases and controls. The potential confounding effects of age and/or sex, as appropriate, were examined using binary logistic regression.

### **3. Results**

#### **The sample**

Out of 1,176 community-based individuals who were approached and invited to take part in this study, 711 participants (305 men and 406 women; mean age  $\pm$  SD: 49.7 $\pm$ 16.7) provided written informed consent and donated a biological sample.

#### ***5-HTTLPR polymorphism***

The final study sample included 611 individuals, 72 (11.8%) participants fulfilled criteria for MDD (26 men, 46 women; mean age  $\pm$  SD: 51.62 $\pm$ 14.98), and 539 were controls (248 men, 291 women; mean age  $\pm$  SD: 49.71 $\pm$ 16.96). The control group did not have diagnosis of any Axis I *DSM-IV* psychiatric disorder. Sociodemographic and clinical characteristics of the sample are summarized in Table 7. In brief, 337 (55.2%) were women; mean age was 49.9 years (SD=16.7) ranging from 19 to 83; more than half the participants lived in urban areas; most were educated at least to secondary school level, were in some sort of stable relationship, and were unemployed (Table 7). The allelic frequencies found were 49.92% for the L allele and 50.08% for the S allele. The frequencies for the three genotypes at the 5-HTTLPR polymorphism were: long/long (L/L): 148 (24.2%); long/short (L/S): 314 (51.4%); short/short (S/S): 149 (24.4%).

#### ***uMAOA polymorphism***

The final study sample included 604 individuals, 71 (11.8%) participants fulfilled criteria for MDD (25 men, 46 women; mean age  $\pm$  SD: 51.58 $\pm$ 14.69), and 533 were controls (244 men, 289 women; mean age  $\pm$  SD: 49.71 $\pm$ 16.91). The



control group did not have diagnosis of any Axis I *DSM-IV* psychiatric disorder. Sociodemographic and clinical characteristics of the sample are summarized in Table 7. In brief, 335 (55.5%) were women; mean age was 49.9 years (SD=16.7) ranging from 19 to 83; more than half the participants lived in urban areas; most were educated at least to secondary school level, were in some sort of stable relationship, and were unemployed (Table 7).

**Table 7.** Sociodemographic and clinical characteristics of the sample.

Variable	Frequency	
	Whole sample 5-HTTLPR (N=611)	Whole sample uMAOA (N=604)
Sex (male/female)	274 (44.8%)/337 (55.2%)	269 (44.5%)/335 (55.5%)
Mean age	49.9 years (SD 16.7)	49.9 years (SD 16.7)
Living area		
Urban	379 (62%)	375 (62.1%)
Intermediate	172 (28.2%)	171 (28.3%)
Rural	60 (9.8%)	58 (9.6%)
Education		
Illiterate	114 (18.7%)	113 (18.7%)
Primary	225 (36.8%)	221 (36.6%)
Secondary or higher	272 (44.5%)	270 (44.7%)
Marital status		
Single	86 (14.1%)	82 (13.6%)
Married/couple	455 (74.5%)	452 (74.9%)
Widowed	38 (6.2%)	37 (6.1%)
Divorced/separated	32 (5.2%)	33 (5.4%)
Working status		
Employed	242 (39.6%)	242 (40.2%)
Unemployed	121 (19.8%)	116 (19.2%)
Retired	112 (18.3%)	112 (18.5%)
Incapacitated for work	18 (3%)	19 (3.1%)
Family or household care	86 (14.1%)	84 (13.9%)
Full-time student	32 (5.2%)	31 (5.1%)
Major depressive disorder		
Cases	72 (11.8%)	71 (11.8%)
Controls	539 (88.2%)	533 (88.2%)

Participants who agreed to take part in the genetic study did not vary significantly from those who refused to give a genetic sample in terms of sex (female 57.1% vs 54.7%,  $\chi^2=0.14$ ,  $P=0.71$ ), mean age (49.72 vs 52.09 years, Student's  $t=0.57$ ,  $P=0.45$ ), living area ( $\chi^2=3.87$ ,  $P=0.14$ ), education ( $\chi^2=7.64$ ,  $P=0.27$ ), marital status ( $\chi^2=2.33$ ,  $P=0.68$ ), working status ( $\chi^2=4.10$ ,  $P=0.54$ ) or prevalence of DSM-IV MDD (10.5% vs 9.4%,  $\chi^2=0.09$ ,  $P=0.77$ ).

## Associations with major depressive disorder

### 5-HTTLPR polymorphism

Genotype frequencies were in Hardy-Weinberg equilibrium in the whole sample, and in the control group ( $P>0.05$  in both cases).

Almost half the participants had the L allele, whereas the rest had the S allele. Just over half the participants had the L/S genotype, approximately a quarter had the L/L genotype, and the quarter left had the S/S genotype (see Table 8 for details). The S allele was found to be more frequent in MDD cases than in controls, although the association was not statistically significant (82% vs. 75%; OR=1.52; 95% confidence interval; 95% CI: 0.81–2.85;  $\chi^2=1.69$ ;  $P=0.194$ ). 5-HTTLPR genotype showed a suggestive trend for association with MDD ( $P=0.078$ ), however, MDD was not associated with the 5-HTTLPR S/S genotype ( $\chi^2=1.77$ ,  $P=0.183$ ). The association analysis between MDD and S/S genotype was adjusted for both sex and age, and the result remained the same.

**Table 8.** Genotype distribution of the 5-HTTLPR polymorphism in the whole sample, MDD cases, and controls in the GranadaΣp study.

	5-HTTLPR genotypes		
	L/L	L/S	S/S
Whole sample, N=611	148 (24.2%)	314 (51.4%)	149 (24.4%)
MDD cases, n=72	13 (18%)	46 (64%)	13 (18%)
Controls, n=539	135 (25.1%)	268 (49.7%)	136 (25.2%)

**Abbreviation:** MDD, major depressive disorder.

***uMAOA polymorphism***

Genotype frequencies were in Hardy-Weinberg equilibrium in the entire sample. uMAOA allele and genotype distributions in cases with MDD and controls are shown in Tables 9 and 10. Since the *MAOA* gene is located on chromosome X, analyses were first carried out in men and women separately.

**Table 9.** Allele distribution of the uMAOA polymorphism in MDD cases and controls in the Granada study.

	Alleles, n (%)			
	3	3.5	4	5
MDD cases, n=71				
Male	7 (28)	0	18 (72)	0
Female	27 (29.3)	0	63 (68.5)	2 (2.2)
Total	34 (29.1)	0	81 (69.2)	2 (1.7)
Controls, n=533				
Male	83 (34)	6 (2.5)	150 (61.5)	5 (2)
Female	213 (36.8)	6 (1)	350 (60.6)	9 (1.6)
Total	296 (36)	12 (1.5)	500 (60.8)	14 (1.7)

**Abbreviation:** MDD, major depressive disorder.

**Table 10.** Genotype distribution of the uMAOA polymorphism in MDD cases and controls in the Granada study.

	Genotypes, n (%)									
	3/3 or 3	3/4	4/4 or 4	3/3.5	4/3.5	3.5/3.5 or 3.5	3/5	4/5	5/5 or 5	3.5/5
MDD cases, n=71										
Male	7 (28)	—	18 (72)	—	—	0	—	—	0	—
Female	4 (8.7)	19 (41.3)	21 (45.7)	0	0	0	0	2 (4.3)	0	0
Total	11 (15.5)	19 (26.8)	39 (54.9)	0	0	0	0	2 (2.8)	0	0
Controls, n=533										
Male	83 (34)	—	150 (61.5)	—	—	6 (2.5)	—	—	5 (2)	—
Female	51 (17.6)	108 (37.4)	119 (41.2)	0	0	3 (1)	3 (1)	4 (1.4)	1 (0.3)	0
Total	134 (25.1)	108 (20.3)	269 (50.5)	0	0	9 (1.7)	3 (0.6)	4 (0.7)	6 (1.1)	0

**Abbreviation:** MDD, major depressive disorder.

Among females and males, both high-activity alleles and high-activity genotypes were not significantly associated with the depressive outcome (see Table 11 and Figure 12). However, high-activity genotypes were more frequent in cases with MDD than in controls, both in males (72% vs. 66%; OR=1.33; 95% CI: 0.53–3.3;  $\chi^2=0.37$ ;  $P=0.543$ ) and females (91% vs. 82%; OR=2.25; 95% CI: 0.77–6.55;  $\chi^2=2.32$ ;  $P=0.128$ ).

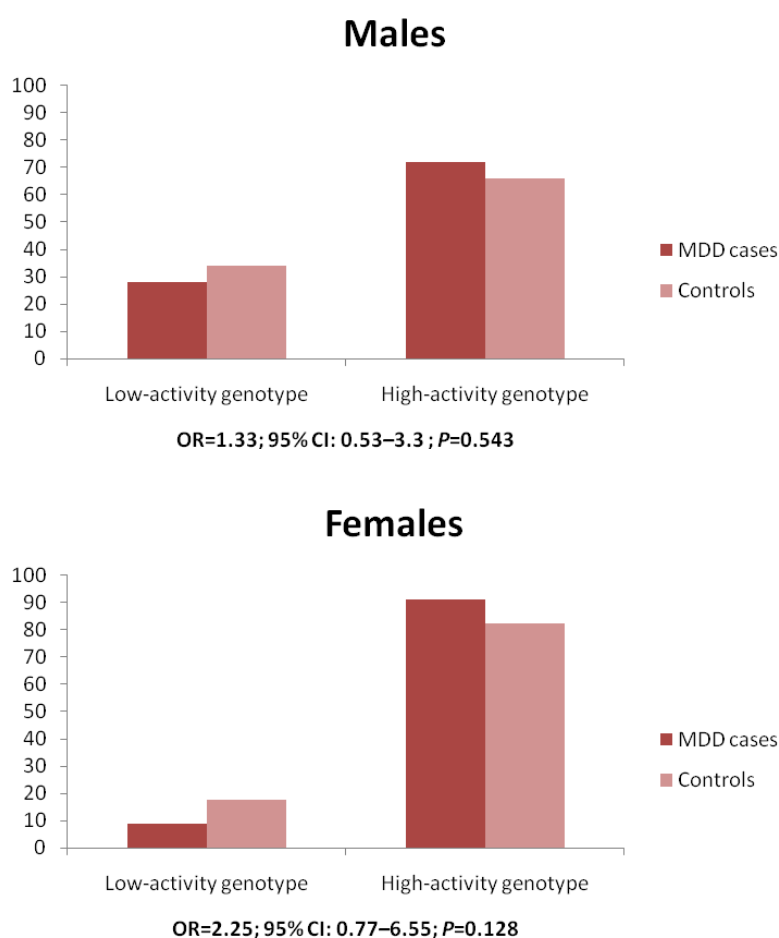
**Table 11.** Low- and high-activity uMAOA allele and genotype frequencies in cases with MDD versus controls.

	Alleles				Genotypes			
	Low (%)	High (%)	OR (95% CI)	<i>P</i>	Low/low (%)	High/* (%)	OR (95% CI)	<i>P</i>
MDD cases, n=71								
Male	7 (28)	18 (72)	1.33 (0.53–3.3)	0.543	7 (28)	18 (72)	1.33 (0.53–3.3)	0.543
Female	27 (29.3)	65 (70.7)	1.40 (0.87–2.27)	0.164	4 (8.7)	42 (91.3)	2.25 (0.77–6.55)	0.128
Total	34 (29.1)	83 (70.9)	1.37(0.90–2.10)	0.141	11 (15.5)	60 (84.5)	1.83 (0.94–3.59)	0.074
Controls, n=533								
Male	83 (34)	161 (66)			83 (34)	161 (66)		
Female	213 (36.9)	365 (63.1)			51 (17.6)	238 (82.4)		
Total	296 (36)	526 (64)			134 (25.1)	399 (74.9)		

**Notes:** \*High/low or high/high genotypes.

**Abbreviations:** MDD, major depressive disorder; OR, odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval.

Exploring the entire sample (males and females) showed a suggestive trend for association between MDD and high-activity genotypes (OR=1.83; CI: 0.94–3.59;  $P=0.074$ ) (Table 11). We adjusted all association analyses between high-activity uMAOA genotype frequencies and MDD for both sex and age in the entire sample, or just for age when women and men were analyzed separately, and it did not alter the results reported.

**Figure 12.** Association between uMAOA polymorphism and risk for MDD.

#### 4. Discussion

Association studies using candidate-gene approaches have been widely used for the study of complex diseases such as MDD. Frequently focused on genes involved in neurotransmitter circuits, they have yielded some suggestive results; however, this strategy has been constantly criticized due to its dearth of replications, and its limited ability to include all possible causal genes and polymorphisms. Despite the initial pessimism, investigators have continued to face the challenge posed by the candidate-gene approach (Flint & Kendler, 2014).

For many years, researchers in the field of affective disorders in general, and MDD in particular, prioritized the study of genes involved in monoamine synthesis and transport, what is assumed to be the mode of action of the most commonly

used antidepressant drugs (Palazidou, 2012; Serretti et al., 2007). The rationale behind the choice of such candidate genes is straightforward, since it is based on the great amount of data suggesting the implication of those neurotransmitter systems in the pathophysiology of MDD (Anguelova et al., 2003).

Based on the lack of convincing results, we decided to explore two of the most frequently studied candidate genes, and their potential association with MDD. The identified genes are involved in known biological pathways. Particularly, we focused on the famous 5-HTTLPR and uMAOA polymorphisms, whose study is well supported by extensive data from epidemiological, physiological, neurochemical, pharmacological, and animal studies investigating the role of 5-HT, its receptors and transporter in the etiology of MDD (Palazidou, 2012). Replication studies in independent samples are absolutely necessary to test the validity of such reports. In the current study we attempted to replicate significant findings from previous candidate gene studies in MDD (Flint & Kendler, 2014). To this end we conducted our association analyses in the Granada $\Sigma$ p study sample, a well-characterized community-based Spanish sample (Cervilla et al., 2015).

### **5-HTTLPR polymorphism**

Over the years, the hypothesis that genetic variation at the serotonin transporter gene (*SLC64A*) may be involved in the predisposition to depressive disorders has been attracting a growing number of followers.

The *SLC64A* gene was initially considered as a promising candidate for depressive and other psychiatric disorders based on its function in serotonergic neurotransmission. The resulting protein transports the neurotransmitter 5-HT from synaptic clefts back into presynaptic neurons, i.e. it is responsible for 5-HT reuptake (Ramamoorthy et al., 1993). A large volume of data has been produced; nevertheless, association results are equivocal (Cohen-Woods et al., 2013). Inhibition of 5-HT reuptake using TCAs and SSRIs is widely used in the clinical treatment of mood disorders such as MDD, but it is also used in the treatment of a number of other medical disorders (Kato & Serretti, 2010). This protein is also a target of psychomotor stimulants, such as amphetamines and cocaine (Ramamoorthy, 1993). Further dysfunction of *SLC64A* gene has been correlated

with increased risk for depression when previous exposure to stressful life events exists (Caspi et al., 2003, 2010; Cervilla et al., 2007; Kendler et al., 1999; Munafò et al., 2009; Risch et al., 2009).

We found a suggestive trend for association between the 5-HTTLPR genotype and MDD; nonetheless, we did not find an increased risk for MDD in participants with the S/S variant at the 5-HTTLPR polymorphism in the serotonin transporter gene. Also, according to previous studies, the presence of the S allele was presumed to be associated with a higher risk for MDD (Zalsman et al., 2006), and neuroticism as well (Lesch et al., 1996; Shifman et al., 2008). In our study, although not significantly, we observed that the S allele was more frequent in MDD cases than in controls.

Overall, our results show modest support to previous observations. Three meta-analyses suggested that the S/S genotype has an effect increasing the risk for MDD (Furlong et al., 1998; López-León et al., 2008; Lotrich & Pollock, 2004), whereas two other did not show evidence supporting such association (Anguelova et al., 2003; Willis-Owen et al., 2005). Some authors have reported an effect by sex in the association between the S/S genotype and depression (Sjöberg et al., 2006). We adjusted for both sex and age in the association analysis between MDD and S/S genotype, but the result remained the same.

Besides other possible explanations such as limited power to detect small gene effects due to the small sample size of the Granada study, negative findings might be partially explained by the presence of a functional SNP, rs25531 (A/G), which has been reported to influence the general expression of the *SLC6A4* gene in individuals with the long allele of the 5-HTTLPR polymorphism. This SNP affects the transcriptional activity as part of a haplotype with the 5-HTTLPR, so the L<sub>G</sub> variant (G substitution along with the long allele) seems to reduce the expression levels to those linked to the short allele (Hu et al., 2007; Nakamura et al., 2000). Relatively little research on the topic has been published so far. The situation may be further complicated by the apparent functional impact of additional proximate SNPs (Martin, Cleak, Willis-Owen, Flint, & Shifman, 2007). If these two functionally distinct subtypes of long allele A and G were included in future investigations, it

could help clarify inconsistent findings from 5-HTTLPR polymorphism association studies.

We think our results point to the notion suggesting that carriers of the S/S genotype have an increased risk for MDD. Currently, it is more and more established that the 5-HTTLPR genotype of the serotonin transporter plays a role in the etiology of MDD. For instance, as a well-known neurobiological evidence, the serotonin transporter is a primary target for most antidepressant drugs, and the 5-HTTLPR genotype can influence the response to the treatment (Burmeister et al., 2008; Kato & Serretti, 2010; Serretti et al., 2007). Moreover, there are findings suggesting that 5-HTTLPR-related alterations in anatomy and function of an amygdala-cingulate feedback circuit may contribute to genetic susceptibility for depression (Hariri & Holmes, 2006; Hariri et al., 2005; Pezawas et al., 2005).

### **uMAOA polymorphism**

Genetic variation at the *MAOA* gene has also been the focus of a great number of studies investigating the relationship between some polymorphisms and psychiatric traits or disorders.

The *MAOA* gene was considered as a likely candidate for psychiatric disorders based on its catabolic activity in the metabolism of biological amine neurotransmitters including 5-HT (Youdim, Edmondson, & Tipton, 2006). The resulting enzyme is responsible for finishing the action of catecholamine neurotransmitters, and therefore it contributes to maintain a normal mental state (Shih & Chen, 2004). Inhibition of MAOA activity using MAO inhibitors has been used in the treatment of mental disorders in general, and mood disorders in particular (Voltas et al., 2015). Dysfunction of MAOA gene has also been correlated with increased aggression levels in mice and humans (Brunner, Nelen, Breakefield, Ropers, & van Oost, 1993; Cases et al., 1995; McDermott et al., 2009). There is also evidence that the uMAOA polymorphism may be associated with other psychiatric traits such as neuroticism, impulsiveness or aggressiveness (Manuck, Flory, Ferrell, Mann, & Muldoon, 2000), and antisocial personality (Checknita et al., 2015; Voltas et al., 2015). Moreover, further dysfunction of MAOA gene has been associated with behavioral disorder and antisocial behavior in men exposed to



environmental adversity (Caspi et al., 2002; Frazzetto et al., 2007; Kim-Cohen et al., 2006; Nilsson et al., 2015; Widom & Brzustowicz, 2006).

Our results showed that high-activity genotypes of the uMAOA polymorphism were more frequent in cases with MDD than in controls, both in males and females. However, no significant associations were found between high-activity alleles/high-activity genotypes and MDD for either males or females. Also, according to some studies carriers of high-activity alleles and homozygous genotypes for high-activity alleles are presumed to have increased, yet modest, risk for MDD, specially in women (Rivera et al., 2009; Schulze et al., 2000; Yu et al., 2005), and MDD subtypes (Gutiérrez et al., 2004), while others did not find such association with affective disorders or MDD specifically (Christiansen et al., 2007). When the entire sample was explored (males and females), we found a suggestive trend for association between high-activity genotypes of the uMAOA polymorphism and MDD. Our adjustment by sex and/or age as appropriate did not modify the results.

The lack of significance, maybe due to insufficient power due to the small sample size of our study, could have been partially overcome by adding more potentially functional *MAOA* polymorphisms to the study. For instance, a good candidate would have been the T941G polymorphism (rs6323) since it was considered to be related to the enzyme's activity (Hotamisligil & Breakefield, 1991), and was also found significantly associated with bipolar disorder (Lim et al., 1995; Rubinsztein et al., 1996); but it does not seem to be associated with MDD (Sasaki et al., 1998; Tadic et al., 2003; Zhang et al., 2010). Hence, we decided to only include the uMAOA polymorphism in the analysis since it is clearly demonstrated that it affects the gene's expression and function, and, also, because it is the most extensively studied variant of this gene.

We think our results, although in line with previous data suggesting an association between the *MAOA* gene and regulation of complex human illnesses, show scarce support to help balance the results found until now. In general, all the evidence seems to converge implicating the *MAOA* gene in the genetic

architectures of psychiatric conditions; nevertheless, association results are still ambiguous (Cohen-Woods et al., 2013).

## **5. Conclusion**

In conclusion, the data of the Granad $\Sigma$ p study failed to replicate the previously reported 5-HTTLPR and uMAOA associations with MDD. We suggest that, if possible, more emphasis should be placed on the environment in molecular behavioral genetics to identify individuals at both environmental high risk and genetic high risk. Moreover, sequencing and new strategies should be used to identify rare and alternative variation that may act as a risk factor. We also believe that a systems biology approach including gene-gene interactions and pathway analysis would be helpful. Given the modest support for the replicated candidate genes, confirmation in independent samples is crucial, and future studies will require even larger samples with reliably defined (sub) phenotypes.

## **Acknowledgements**

The Granad $\Sigma$ p study was mostly funded by an Andalusian Health System Health Council grant (PI0322/2009) and partially by Astra-Zeneca in agreement with CIBERSAM. This work was also supported by a PhD grant from the Spanish Ministry of Education (AP2010-3563), and by the Andalusian Council of Innovation (CTS-6682). We would like to thank all participants for collaborating on the study and agreeing to provide a biological sample, and all the people whose work contributed to the achievement of this work.

***Epidemiological support for genetic  
variability at hypothalamic-pituitary-  
adrenal axis and serotonergic system  
as risk factors for major depression***

---



## Resumen

---

**Antecedentes:** La depresión mayor (DM) es un trastorno mental grave y común en la población general. Para el año 2020 se estima que la DM sea la segunda causa de discapacidad en el mundo. El estudio GranadΣp es el primer estudio epidemiológico sobre salud mental en Andalucía (sur de España), y uno de sus principales objetivos es identificar factores genéticos y ambientales de riesgo para DM y otros trastornos psiquiátricos mayores. En este trabajo, nos centramos en la posible asociación de 91 SNPs candidatos con DM.

**Métodos:** Un total de 711 individuos de la población general adulta participaron en el estudio GranadΣp. Todos los participantes fueron extensamente evaluados para variables clínicas, psicológicas, socio-demográficas, de estilo de vida y otros factores ambientales. Además, se recogió una muestra biológica para su posterior análisis genético en los 91 SNPs candidatos para DM. Se usó el diagnóstico *DSM-IV* de DM como variable resultado. Se realizó un análisis de regresión logística asumiendo un modelo genético aditivo para evaluar la asociación entre DM y los datos genéticos. El umbral de significación se ajustó con el método *SNP spectral decomposition*, que proporcionó un *P*-valor máximo ( $8 \times 10^{-3}$ ) requerido para identificar una asociación. También se realizaron análisis de haplotipos.

**Resultados:** Un SNP (rs623580) situado en el gen de la triptófano hidroxilasa 1 (*TPH1*; cromosoma 11), una variante intergénica (rs9526236) aguas arriba del gen del receptor de 5-hidroxitriptamina 2A (*HTR2A*; cromosoma 13), y cinco polimorfismos (rs17689966, rs173365, rs7209436, rs110402 y rs242924) situados en el gen del receptor 1 de la hormona liberadora de corticotropina (*CRHR1*; cromosoma 17), mostraron tendencia hacia la asociación con DM ( $P < 0.05$ ). En el gen *CRHR1*, se encontró que el haplotipo TATGA incrementaba significativamente el riesgo de DM con una OR = 1.68 (95% IC: 1.16–2.42,  $P = 0.006$ ).

**Conclusión:** Aunque de forma limitada, quizás debido a un insuficiente poder estadístico, nuestros resultados parecen apoyar la posible implicación de los sistemas hipotalámico-hipofisario-adrenal y serotoninérgico en la susceptibilidad genética a la DM. Se necesitarán estudios futuros, incluyendo muestras mayores, para la validación y replicación de estos hallazgos.



## Abstract

---

**Background:** Major depressive disorder (MDD) is a serious and common psychiatric disorder worldwide. By the year 2020, MDD will be the second cause of disability in the world. The GranadΣp study is the first epidemiological study of mental disorders carried out in Andalusia (South Spain), being one of its main objectives to identify genetic and environmental risk factors for MDD and other major psychiatric disorders. In this study, we focused on the possible association of 91 candidate single nucleotide polymorphisms (SNPs) with MDD.

**Methods:** A total of 711 community-based individuals participated in the GranadΣp study. All individuals were extensively assessed for clinical, psychological, socio-demographic, life style and other environmental variables. A biological sample was also collected for subsequent genetic analyses in 91 candidate SNPs for MDD. *DSM-IV* diagnosis of MDD was used as the outcome variable. Logistic regression analysis assuming an additive genetic model was performed to test the association between MDD and the genetic data. The experiment-wide significance threshold adjusted with the SNP spectral decomposition method provided a maximum *P*-value ( $8 \times 10^{-3}$ ) required to identify an association. Haplotype analyses were also performed.

**Results:** One SNP (rs623580) located in the tryptophan hydroxylase 1 gene (*TPH1*; chromosome 11), one intergenic variant (rs9526236) upstream of the 5-hydroxytryptamine receptor 2A gene (*HTR2A*; chromosome 13), and five polymorphisms (rs17689966, rs173365, rs7209436, rs110402, and rs242924) located in the corticotropin-releasing hormone receptor 1 gene (*CRHR1*; chromosome 17), all showed suggestive trends for association with MDD ( $P < 0.05$ ). Within *CRHR1* gene, the TATGA haplotype combination was found to increase significantly the risk for MDD with an odds ratio =1.68 (95% CI: 1.16–2.42,  $P=0.006$ ).

**Conclusion:** Although limited, perhaps due to insufficient sample size power, our results seem to support the notion that the hypothalamic–pituitary–adrenal and serotonergic systems are likely to be involved in the genetic susceptibility for MDD. Future studies, including larger samples, should be addressed for further validation and replication of the present findings.





## 1. Introduction

Major depression is the most common psychiatric disorder, with an estimated lifetime prevalence that varies from 8% to 12% across studies (Demyttenaere et al., 2004; Kessler et al., 2003). It is a serious mental illness characterized by persistent sadness and anhedonia, as well as alterations in vegetative, psychomotor and cognitive functions. It can deeply impair the person's ability to function or cope with daily life, being a leading cause of disability worldwide (Whiteford et al., 2015).

Genetic factors clearly play a substantial role in the etiology of major depression, as evidenced by family and twin studies that report heritability estimates ranging from 17% to 75%, with an average of 37% (Kendler et al., 2006a; Kendler, Gatz, Gardner, & Pedersen, 2006b; Sullivan et al., 2000). Since major depression is responsible for a significant burden on our health systems (Whiteford et al., 2015), the identification of underlying genetic factors has recently been recognized to be among the greatest challenges that researchers are facing (Collins et al., 2011). A better understanding of the genetic bases of major depression could provide new insights into the etiology of such illness and lead to improved diagnosis, treatments and prevention strategies.

Although several genome-wide association studies (GWAS) have been published in the last few years, none of them has robustly identified a locus that exceeds genome-wide significance for major depressive disorder (MDD) or genetically related traits (Flint & Kendler, 2014). The lack of conclusive results could be explained, at least, in part, by an underlying genetic vulnerability caused by the joint effect of multiple loci of small effect, difficult to detect from GWAS approaches.

In contrast to such results, some promising findings have been reported from classical genetic association studies. A recent review by Flint & Kendler (2014) shows that from almost 200 candidate genes for MDD tested in different studies, only a few provided some robust results. This review also includes a meta-analysis

focused on 26 of those candidate genes for MDD, of which seven yielded a significant *P*-value (*SLC6A4*, *APOE*, *DRD4*, *GNB3*, *HTR1A*, *MTHFR*, and *SLC6A3*).

Such suggestive results come from a neurobiologically informed strategy of genetic search (based on the existing knowledge of the underlying neural substrates of the disorder) which can be particularly informative in unraveling the genetic architecture of MDD. With this approach in the context of an epidemiological study on mental disorders with a representative sample of the province of Granada, southern Spain (the Granada study), we designed a custom single nucleotide polymorphism (SNP) array containing 91 SNPs of relevance for MDD. The SNPs were chosen taking into account key candidate genes previously described in the literature, novel genes from putatively important pathways and top hits from published GWAS on MDD. Our main aim was to evaluate the possible association of these 91 candidate SNPs with MDD.

## **2. Materials and methods**

### **Study context and design**

The Granada study is a cross-sectional epidemiological study based on a relatively large sample representative of the adult population living in the province of Granada (southern Spain). This study was designed to serve as a self-contained pilot study for a larger cross-sectional study using a sample of the entire Andalusia region (the Comprehensive Programme for Andalusian Mental Health [PISMA-ep study] (Cervilla et al., 2015)), and both used the same assessment methods. Both studies were cross-sectional surveys aiming to establish the prevalence of major psychiatric disorders in Andalusia and to identify genetic and environmental risk factors for such conditions.

The recruitment of the sample took place between October 2011 and December 2012 involving the province of Granada ( $n=711$ ). All individuals in this study were randomly selected from the Andalusian Health Service users database, which is estimated to cover 98% of the population. Participants were assessed for clinical,

psychological, sociodemographic, life style, and other environmental variables. Individuals who also agreed to participate in the genetic analysis gave specific informed consent and provided a biological sample. Participants were mostly Spanish of Spanish ancestry; although Spanish nationality was not an inclusion criterion and people coming from other European countries with European ancestry could also be included in the study.

The Granada study was approved by the Research Ethic Committee of the University of Granada. The common methodology of both the Granada and PISMA-ep studies has been described in more detail elsewhere (Cervilla et al., 2015).

### **The sample**

Sampling was performed in a two-stage cluster sampling with stratification of the primary sampling units depending on whether they were rural or urban. Rurality was determined according to the rurality of Andalusian municipalities index (Ocaña-Riola & Sánchez-Cantalejo, 2005). The median of the rurality index for all Andalusian municipalities was taken into account to make the distinctions between rural and urban municipalities.

In the first stage municipalities were sampled by probability proportional to size cluster sampling. Clusters were selected with proportional allocation within strata. The total number of selected municipalities represented approximately 15% of the total of municipalities in the province of Granada. In the second stage the individuals that made up the sample were selected using a simple random sampling procedure.

Eight hundred and nine non-institutionalized community-based participants living in the province of Granada agreed to take part in the survey. All interviews were performed between October 2011 and September 2012. To be able to estimate a 2% mental disorder prevalence with  $\pm 0.8\%$  accuracy at a 95% CI the sample was estimated at 1,176 participants.

All living participants between the ages of 18 and 80 were selected for participation in the study, divided into four age groups. Exclusion criteria were:

being outside the age range, having lived in Granada province for less than a year, not being able to communicate fluently in Spanish, being too ill to be able to complete the interview, having a diagnosis of dementia or mental retardation, living in an institution (hospital, prison, etc), having moved or not living normally at the address we had been given by the users database, and erroneous data from the users database (eg, an incomplete address). Excluded participants were replaced with other individual matched for age, sex and location.

### **Characterization of major depressive disorder**

The Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI) (Sheehan et al., 1998) was used to ascertain psychiatric diagnoses in our sample. Interviews were conducted by professionally trained psychologists and took place either in the participant's local primary health care center or in their homes.

The psychiatric interview section was composed of the MINI interview which generates Axis I *DSM-IV* and ICD-10 diagnoses for 16 mental disorders. This interview consists of one or two screening questions asked to all participants at the beginning of each of the diagnostic sections. Any participants responding positively to the screening questions are then asked the complete set of that section's questions leading to ascertainment of that section's specific diagnosis. Prevalence of MDD was calculated using the information from the MINI interview, where diagnoses of mental disorders were determined by their answers about symptoms. A *DSM-IV* compatible diagnosis of MDD, generated from the MINI interview, was used as the outcome variable in this study.

### **Genetic analysis**

#### ***SNP selection***

Ninety-one SNPs were selected for analysis in this study. These SNPs were chosen among the most replicated ones in previous genetic association studies on depression and among those described as suggestive or clearly associated with MDD in previous GWAS published between 2010 and 2011 (Kohli et al., 2011; Lewis et al., 2010; Muglia et al., 2010; Rietschel et al., 2010; Shi et al., 2011; Shyn et al., 2011; Sullivan et al., 2009). We searched public databases for general

information about the genes and polymorphic variants of interest, including some haplotype tagging and potentially functional SNPs, as well as markers with minor allele frequencies higher than 0.1. This information was then combined and compared to the list of SNPs available from Illumina, Inc. (San Diego, CA, USA).

### **Genotyping**

A biological sample was obtained from each participant using the Oragene DNA saliva collection kit (OG-500; DNA Genotek Inc, Ottawa, ON, Canada). DNA extraction was performed by using standard procedures. DNA concentration was measured by absorbance using the Infinite® M200 PRO multimode reader (Tecan US Inc, Research Triangle Park, NC, USA).

Genotyping was performed using TaqMan® OpenArray™ Genotyping System (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) following the manufacturer's instructions. Raw data was analyzed with the TaqMan Genotyper v1.2 software (Thermo Fisher Scientific).

Stringent quality control criteria were applied to both SNP and individual data. SNPs were excluded if they had a missing genotype rate higher than 10% or showed departure from Hardy-Weinberg equilibrium ( $P < 0.01$ ). Individuals with genotypic data showing a missing rate  $> 10\%$  or those with a non-European ancestry were also excluded.

After quality control procedures, 85 SNPs and 567 individuals were finally included in the analyses. Detailed information about those SNPs, such as location, function, or possible allelic variants, is given in Table 1S.

### **Statistical analysis**

Hardy-Weinberg equilibrium was checked in the entire sample, and both in depressed individuals and controls, by using Plink (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/>) (Purcell et al., 2007).

The same statistical package was also used to test the association between MDD and the SNP data assuming an additive genetic model.

The number of effective-independent tests performed was calculated with the single nucleotide polymorphism spectral decomposition (SNPSpD) method. This method corrects for non-independence of SNPs in linkage disequilibrium (LD) with each other (Nyholt, 2004). Under this method, the effective number of independent marker loci was 61, and the experiment-wide significance threshold required to keep type I error rate at 5% was  $8 \times 10^{-3}$ .

We further estimated haplotype frequencies with the standard expectation-maximization algorithm and performed simple tests of association based on the distribution of probabilistically-inferred set of haplotypes in depressed individuals and controls.

Haplotype-specific OR and 95% CI were calculated. Statistical significance was set at  $P < 0.05$  for haplotype association analysis.

Statistical power was calculated by using the software QUANTO v.1.2.4 (<http://biostats.usc.edu/Quanto.html>). QUANTO allowed us to calculate both the effect size we could detect (OR ranging from 2 to 5) and the power we had (ranging from 50% to 80% with a  $P < 8 \times 10^{-3}$ ) taking into account: i) our sample size (65 cases and 505 controls); ii) the prevalence of the illness (15%); iii) the frequency of the risk alleles (ranging from 0.10 to 0.50), and iv) an additive genetic model.

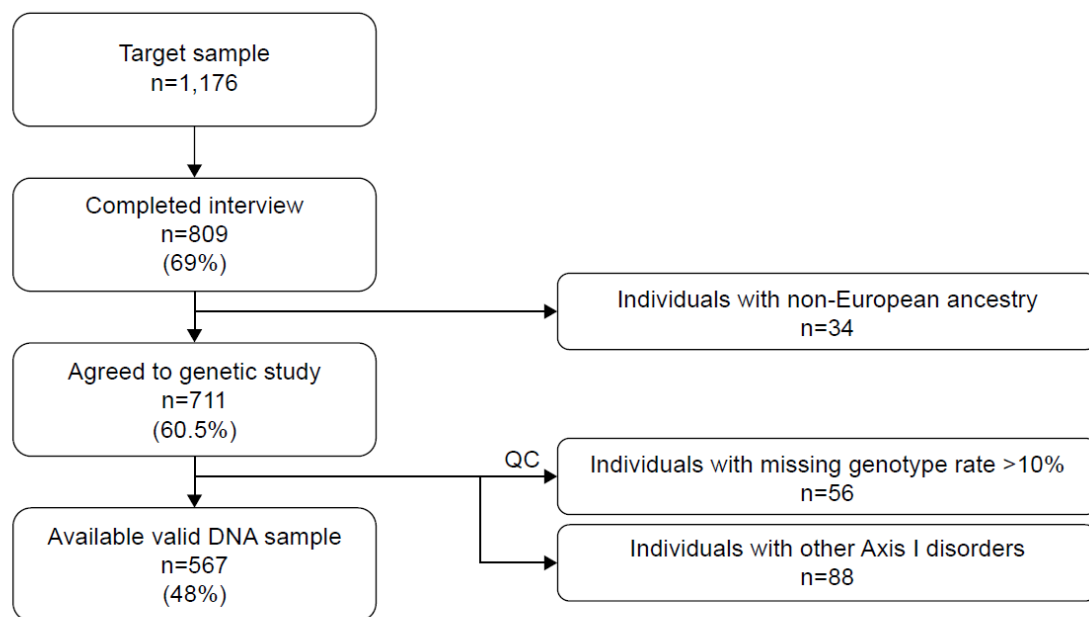
### **3. Results**

#### **The sample**

Out of 1,176 community-based individuals who were approached and invited to take part in this study, 711 participants (305 men and 406 women; mean age  $\pm$  SD:  $49.7 \pm 16.7$ ) provided written informed consent and donated a biological sample. The final study sample included 567 individuals (Figure 13), 67 (11.8%) of whom fulfilled criteria for MDD (25 men, 42 women; mean age  $\pm$  SD:  $51.25 \pm 14.64$ ), and 500 were controls (230 men, 270 women; mean age  $\pm$  SD:  $49.34 \pm 17.05$ ). The control group did not have diagnosis of any Axis I *DSM-IV* psychiatric disorder.

Sociodemographic and clinical characteristics of the sample are summarized in Table 12. In brief, 312 (55%) were women; mean age was 49.6 years (SD=16.8) ranging from 19 to 83; more than half the participants lived in urban areas; most were educated at least to secondary school level, were in some sort of stable relationship, and were unemployed (Table 12).

**Figure 13.** GranadΣp study sample and response rates.



**Abbreviation:** QC, quality control.

Participants who agreed to take part in the genetic study did not vary significantly from those who refused to give a genetic sample in terms of sex (female 57.1% vs 54.7%,  $\chi^2=0.14$ ,  $P=0.71$ ), mean age (49.72 vs 52.09 years, Student's  $t=0.57$ ,  $P=0.45$ ), living area ( $\chi^2=3.87$ ,  $P=0.14$ ), education ( $\chi^2=7.64$ ,  $P=0.27$ ), marital status ( $\chi^2=2.33$ ,  $P=0.68$ ), working status ( $\chi^2=4.10$ ,  $P=0.54$ ) or prevalence of *DSM-IV* MDD (10.5% vs 9.4%,  $\chi^2=0.09$ ,  $P=0.77$ ).

**Table 12.** Sociodemographic and clinical profile of the Granada sample.

Variable	Frequency		
	Whole sample (N=567)	Cases (n=67)	Controls (n=500)
Sex (male/female)	255 (45%)/312 (55%)	25 (37.3%)/42(62.7%)	230 (46%)/270 (54%)
Mean age	49.6 years (SD 16.8)	51.3 years (SD 14.6)	49.3 years (SD 17.1)
Living area			
Urban	348 (61.4%)	40 (59.7%)	308 (61.6%)
Intermediate	162 (28.5%)	18 (26.9%)	144 (28.8%)
Rural	57 (10.1%)	9 (13.4%)	48 (9.6%)
Education			
Illiterate	102 (18%)	17 (25.4%)	85 (17%)
Primary	215 (37.9%)	29 (43.3%)	186 (37.2%)
Secondary or higher	250 (44.1%)	21 (31.3%)	229 (45.8%)
Marital status			
Single	84 (14.8%)	6 (9%)	78 (15.6%)
Married/couple	420 (74.1%)	47 (70.1%)	373 (74.6%)
Widowed	35 (6.2%)	7 (10.4%)	28 (5.6%)
Divorced/separated	28 (4.9%)	7 (10.5%)	21 (4.2%)
Working status			
Employed	225 (39.7%)	20 (29.9%)	205 (41%)
Unemployed	115 (20.3%)	18 (26.9%)	97 (19.4%)
Retired	99 (17.4%)	13 (19.4%)	86 (17.2%)
Incapacitated for work	17 (3%)	6 (9%)	11 (2.2%)
Family or household care	80 (14.1%)	9 (13.4%)	71 (14.2%)
Full-time student	31 (5.5%)	1 (1.5%)	30 (6%)

### Genetic association analysis

Genotype frequencies were found to be in Hardy-Weinberg equilibrium in the whole sample, and both in cases and controls ( $P > 0.05$  in all cases).

None of the 85 SNPs were significantly associated with MDD after multiple testing correction ( $P > 8 \times 10^{-3}$  in all comparisons). However, one SNP (rs623580) located in the tryptophan hydroxylase 1 gene (*TPH1*; chromosome 11), one intergenic variant (rs9526236) between the esterase D gene (*ESD*) and the 5-hydroxytryptamine receptor 2A gene (*HTR2A*; chromosome 13), and five polymorphisms (rs17689966, rs173365, rs7209436, rs110402, and rs242924) located in the corticotropin releasing hormone receptor 1 gene (*CRHR1*; chromosome 17), all showed suggestive trends for association with MDD, reaching traditionally conventional levels of statistical significance ( $P < 0.05$ ).



Detailed association results for these seven SNPs are shown in Table 13. Figure 14 and Table 1S show the association results of the 85 SNPs included in the analyses.

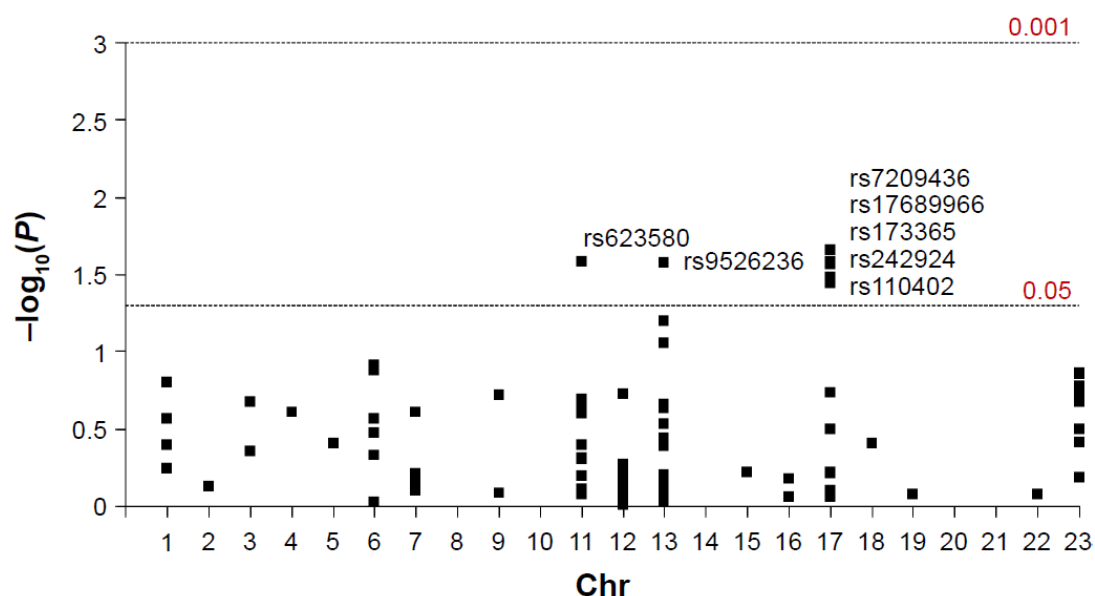
**Table 13.** Single marker association analyses between the top 7 risk SNPs and MDD in the Granada study.

SNP	Gene	Chr	Position (GRCh38)	Allele <sup>a</sup>	MAF <sup>b</sup>	MDD		
						OR	SE	P-value
rs623580	<i>TPH1</i>	11	18042430	A/T	0.37 (A)	0.614	0.219	0.026
rs9526236	Intergenic variant	13	46814392	C/T	0.42 (T)	0.657	0.189	0.027
rs17689966	<i>CRHR1</i>	17	45833089	G/A	0.39 (G)	1.524	0.190	0.026
rs173365	<i>CRHR1</i>	17	45823708	A/G	0.37 (A)	1.526	0.192	0.027
rs7209436	<i>CRHR1</i>	17	45792776	C/T	0.47 (C)	1.540	0.188	0.022
rs110402	<i>CRHR1</i>	17	45802681	G/A	0.46 (G)	1.487	0.190	0.036
rs242924	<i>CRHR1</i>	17	45808001	G/T	0.46 (G)	1.502	0.191	0.033

**Notes:** <sup>a</sup>Risk alleles are underlined; <sup>b</sup>minor allele is in parentheses.

**Abbreviations:** Chr, chromosome; MAF, minor allele frequency; MDD, major depressive disorder; OR, odds ratio; SE, standard error; SNPs, single nucleotide polymorphisms.

**Figure 14.** Manhattan plot displaying association results between the 85 SNPs and MDD.



**Note:** Dotted lines represent the P-value 0.05 and 0.001 thresholds.

**Abbreviations:** Chr, chromosome; MDD, major depressive disorder; SNPs, single nucleotide polymorphisms.

## Haplotype analysis

A five-marker haplotype analysis was performed including the five *CRHR1* SNPs univariantly associated with MDD. Table 14 shows haplotype frequencies both in cases and controls. Among all the possible haplotype combinations, three of them accounted for more than 96% of the total variability observed both in depressive cases and controls. However, these haplotypes were not equally distributed in both groups ( $\chi^2=8.70$ ,  $df=3$ ,  $P=0.034$ ). Particularly, the TATGA haplotype (rs7209436–rs110402–rs242924–rs173365–rs17689966) was found to be over-represented in MDD cases (42%) when compared with controls (30%) (OR=1.68; 95% CI: 1.16–2.43;  $P=0.005$ ) (Table 14).

A three-marker haplotype analysis was also performed including only the three SNPs that constitute the known *CRHR1* TAT haplotype (which involves the following SNPs: rs7209436–rs110402–rs242924; Table 14). Such haplotype combination (inserted in the five-SNPs haplotype described), has previously been described as a risk haplotype for depression in other studies (Bradley et al., 2008; Kranzler et al., 2011; Nugent et al., 2011; Polanczyk et al., 2009).

**Table 14.** Estimated *CRHR1* haplotypes frequencies in cases and controls.

Haplotype <sup>a</sup>	Frequency (cases)	Frequency (controls)	$\chi^2$	P-value	OR (95% CI) <sup>b</sup>
<b>TATGA</b>	0.42	0.30	7.92	<b>0.005</b>	1.68 (1.16–2.42)
CGGGA	0.15	0.16	0.14	0.705	
TATAG	0.02	0.04	1.48	0.224	
CGGAG	0.41	0.50	3.38	0.066	
<b>TAT</b>	0.44	0.34	5.18	<b>0.023</b>	1.53 (1.06–2.20)
CAT	0.01	0.01	0.32	0.573	
<b>CGG</b>	0.55	0.65	4.53	<b>0.033</b>	0.66 (0.46–0.96)

**Notes:** <sup>a</sup>SNPs forming the haplotype are 1) rs7209436–rs110402–rs242924–rs173365–rs17689966, and 2) rs7209436–rs110402–rs242924; <sup>b</sup>odds ratio (95% CI) associated with TATGA, TAT, and CGG haplotypes compared with any other haplotype combination. Bold entries indicate that the haplotypes are significantly more frequent in MDD cases than in controls or vice versa.

**Abbreviations:** 95% CI, 95% confidence interval; OR, odds ratio.

In our sample, the TAT haplotype was also more frequent in MDD cases (44%) than in controls (34%) (OR=1.53; 95% CI: 1.06–2.20;  $P=0.023$ ), whereas the CGG

haplotype was significantly more frequent in controls (65%) than in MDD cases (44%) (OR=0.66; 95% CI: 0.46–0.96;  $P=0.028$ ).

#### 4. Discussion

Despite significant advances in the search of the genetic basis of MDD, knowledge of the specific genes involved, genetic mechanisms, and physiological intermediates underlying the origin of such illness remains still very limited. Candidate gene studies, mostly focused on genes involved in neurotransmitter circuits or in reactions to stress, have yielded some suggestive results, although not conclusive enough. One of the reasons could be the polygenic nature of the illness and the hypothetically large number of loci involved, each of small effect. Moreover, as reported in Maier et al. (2015), MDD seems to be less homogeneous across populations than other psychiatric disorders such as schizophrenia and bipolar disorder. Replication studies in independent samples are absolutely necessary to test the robustness of such association reports.

In this study, we aimed to replicate previously reported associations between candidate genes and MDD (Anguelova et al., 2003; Fukuo et al., 2010; Kishi et al., 2009; López-León et al., 2008) in a sample of the general adult population of Andalusia (South of Spain). Although none of the associations tested were statistically significant after multiple testing correction ( $P > 8 \times 10^{-3}$ ), seven SNPs in three candidate genes (*TPH1*, *HTR2A*, and *CRHR1*) showed trends towards association ( $P < 0.05$ ), and one haplotype combination at *CRHR1* was found to increase significantly the risk for MDD in our sample.

#### **Association of two key serotonergic pathway genes (*TPH1* and *HTR2A*) with MDD**

*TPH1* and *HTR2A* are key genes in the serotonergic neurotransmission. Disturbances in the serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) system constitute the neurobiological abnormality most extensively studied and consistently associated with MDD (López, Chalmers, Little, & Watson, 1998; Pariante & Lightman, 2008). The neurotransmitter serotonin modulates various functions related to

homeostasis and responses to the environment, which in turn are linked to MDD. In addition, most antidepressants have a direct or indirect influence on serotonergic activity (Berger et al., 2009; Kato & Serretti, 2010). Several lines of evidence suggest that abnormalities in the functioning of the serotonergic system are present in psychiatric conditions such as depression, schizophrenia, and obsessive-compulsive disorders, as well as suicide and aggression (Wang, Erlandsen, Haavik, Knappskog, & Stevens, 2002).

*TPH1* gene encodes a tryptophan hydroxylase (TPH) isoform, a rate-limiting enzyme involved in the synthesis of neurotransmitter serotonin (Andre et al., 2013; Kato & Serretti, 2010). Although *TPH* gene sequence variants and multiple psychiatric disorders have been associated over time, most mutations are found in noncoding regions of the gene, and limited information about their functional consequences is available. The administration of tryptophan and subsequent stimulation of serotonin production has an antidepressant effect, whereas the inhibition of TPH may precipitate depression (Wang et al., 2002). In 2002, Kim et al. found that *TPH* expression is upregulated by chronic treatment with SSRIs, which provides an additional link between the antidepressant effect and TPH activity (Kim, Park, & Hwang, 2002).

The rs623580 (3804T/A) is an upstream genetic variant located in a regulatory region within the 5'-UTR of the *TPH1* gene at chromosome 11 (Lai, Wu, Tsai, Lin, & Sun, 2005). Previous studies involving this polymorphism have reported negative results with affective disorders (Lai et al., 2005; Shi et al., 2008) and suicide-related behavior (Brent et al., 2010). However, Kwak et al. (2012) in a GWAS of 8,842 individuals found that this polymorphism was associated with body mass index (BMI), a measure of obesity many times related to MDD (de Wit et al., 2010; Hung et al., 2014; Luppino et al., 2010; Opel et al., 2015).

There is a large amount of data implicating the serotonin system in the pathophysiology of affective disorders, but much of the attention is given specifically to genes coding for serotonin receptors and transporters (Anguelova et al., 2003; Kato & Serretti, 2010). Moreover, almost every compound ever synthesized in order to inhibit serotonin reuptake has been proved to be a

clinically effective antidepressant (Belmaker & Agam, 2008). The *HTR2A* is particularly relevant in the field of biological psychiatry due to its role as an important target for psychotropic drugs and its altered expression in several neuropsychiatric disorders such as MDD and schizophrenia (Anguelova et al., 2003; Bray, Buckland, Hall, Owen, & O'Donovan, 2004; Norton & Owen, 2005). *HTR2A* gene in chromosome 13 is implicated in the regulation of serotonergic neurotransmission (Falkenberg et al., 2011) and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis (Lanfume, Mongeau, Cohen-Salmon, & Hamon, 2008; Porter, Gallagher, Watson, & Young, 2004). *HTR2A* has been extensively studied in genetic association studies of many psychiatric conditions, but results are inconclusive and do not allow us to draw any definite conclusion about the potential implication of the *HTR2A* gene in MDD (Zhao et al., 2014).

In our study, the rs9526236 polymorphism (*HTR2A*) showed a trend for association with MDD. Although it has not been investigated in previous studies, its location upstream of the promoter region of *HTR2A* gene and its potential functionality makes it a good candidate variant to be further investigated in future studies given that both MDD and some antidepressants effects are linked to functionality of 5HT<sub>2A</sub> receptors.

### **Association between *CRHR1* and MDD**

*CRHR1* encodes a G-protein coupled receptor that binds neuropeptides of the corticotropin releasing hormone (CRH) family that are major regulators of the hypothalamic-pituitary-adrenal pathway (Schatzberg et al., 2014). The encoded protein is essential for the activation of signal transduction pathways that regulate diverse physiological processes including stress, reproduction, immune response, and obesity (Binder & Nemeroff, 2010).

In response to stressful events, this receptor modifies the extent and duration of the response mediating the action of CRH on the pituitary gland to secrete corticotropin into the bloodstream. Corticotropin stimulates the production of cortisol in the adrenal cortex (Polanczyk et al., 2009). According to the hypothalamic-pituitary-cortisol hypothesis of depression, abnormalities in the cortisol response to stress may underlie depression (Belmaker & Agam, 2008).

In this study, we have found five SNPs (rs7209436, rs110402, rs242924, rs173365, and rs17689966) within *CRHR1* gene suggestive of being associated with MDD. The haplotype analysis (including these five *CRHR1* markers) revealed significant differences in the distribution of haplotype combinations between cases and controls. Particularly, TATGA haplotype (rs7209436–rs110402–rs242924–rs173365–rs17689966) was found in our sample to be significantly more frequent in cases with MDD than in controls (42% vs 30%,  $P=0.006$ ).

Several SNPs at *CRHR1* locus have been associated with the origin of MDD in previous studies (Ishitobi et al., 2012; Liu et al., 2007). Some authors suggest that variation at *CRHR1* could modulate reactivity to stress, and that altered *CRHR1* function would be associated to stress-related psychopathology, particularly anxiety, and depressive disorders (Rogers et al., 2013).

*CRHR1* haplotypes have also been associated with MDD (Ishitobi et al., 2012; Liu et al., 2007), as well as with MDD mediated by childhood trauma (Bradley et al., 2008; Polanczyk et al., 2009) and clinical response to antidepressant treatment (Licinio et al., 2004; Liu et al., 2007). Our results are in agreement with these previous reports and, although our power is limited by our sample size, our data are in line with the pivotal neurobiological role that *CRHR1* seems to play in the regulation of emotions. No doubt, *CRHR1* is a highly suggestive candidate gene for MDD which would deserve further attention in future analysis.

Taking all together, our results are in agreement with previous neurochemical findings reporting disturbances at both HPA and serotonergic systems as highly likely implicated in MDD. Although a full comprehension of the nature of the relationships existing between both (HPA and serotonergic) systems is yet needed, it is well known that the HPA axis functioning can be modulated by various neuronal signaling molecules, including serotonin (Leonard & Myint, 2009) and, conversely, serotonergic activity can be modulated by HPA axis (i.e., CNS concentrations of serotonin can decrease after a stimulation of the tryptophan metabolism induced by glucocorticoids) (Green, Sourkes, & Young, 1975). Since such relationship exists, we could think that *TPH1*, *HTR2A*, and *CRHR1* genes work synergistically and they jointly contribute to confer a genetic risk profile for MDD

which may differ according to the specific allele combinations carried by each subject. This hypothesis has not been tested in our study as our sample has a limited size but, in future studies, it would be desirable to analyze the possible joint effect of *TPH1*, *HTR2A*, and *CRHR1* genes on MDD.

### **Strengths and limitations**

One of the main strengths of our study is its design, based on a candidate gene approach. Candidate gene studies are relatively low-cost and quick to perform, are focused on previous knowledge related to the genes and mechanisms underlying the etiology of the disease, and involve a relatively small number of statistical tests in comparison to traditional GWAS, so that the significance threshold can be less stringent (Patnala, Clements, & Batra, 2013). Another strength of our study is that the sample is representative of the general population and considerably well characterized for clinical, psychological, socio-demographic, life style, and environmental variables. No potential problems of population stratification are expected as the sample comes from a homogeneous ethnic background, being all individuals Caucasian of Spanish ancestry.

The main limitation of our study is its sample size which has a limited power to detect small and even moderate effects, as the power calculation performed in the statistics section reveals. A reduced number of candidate SNPs have also been investigated for this study. However, we prioritized theory-driven replication of previous associations between key genes and MDD, other genes from putatively important pathways (genes already known or even novel genes identified in recent GWAS) might not have been included in the analysis.

## **5. Conclusion**

In conclusion, our results support that the HPA and serotonergic neurotransmission variability are both likely to be involved in the genetic susceptibility for MDD. This is in agreement with neurochemical findings which report disturbances at both HPA and serotonergic systems as highly likely

implicated in MDD, although a full comprehension of the nature of such relationships is yet needed. Future studies including larger samples will be needed for further validation and replication of the present findings.

### **Acknowledgements**

This work was mostly funded by an Andalusian Health System Health Council grant (PI0322/2009) and partially by Astra-Zeneca in agreement with CIBERSAM. It was also supported by a PhD grant from the Spanish Ministry of Education (AP2010-3563), and by the Andalusian Council of Innovation (CTS-6682).



## Supplementary material

**Table 1S.** Association analyses between the 85 SNPs and MDD in the Granada study.

Chr	Gene	SNP	Description	MDD		
				OR	SE	P-value
1	<i>RPL31P12</i>	rs2568958	Ribosomal protein L31 pseudogene 12	0.746	0.208	0.157
	-	rs2815752	Intergenic variant	0.840	0.208	0.401
	<i>TNNI3K/FPGT-TNNI3K</i>	rs1514175	TNNI3 interacting kinase / FPGT-TNNI3K readthrough	1.113	0.188	0.568
	<i>SEC16B</i>	rs543874	SEC16 homolog B ( <i>S. cerevisiae</i> )	1.344	0.269	0.272
2	-	rs713586	Intergenic variant	0.943	0.185	0.752
3	<i>TRIM71</i>	rs1878887	Tripartite motif containing 71, E3 ubiquitin protein ligase	1.339	0.234	0.212
	<i>DGKG</i>	rs9816226	Diacylglycerol kinase, gamma 90kDa	0.821	0.258	0.446
4	-	rs10938397	Intergenic variant	0.802	0.190	0.246
5	<i>RP11-158J3.2/HTR1A</i>	rs6295	Gene RP11-158J3.2 / 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 1A, G protein-coupled	0.851	0.191	0.395
6	<i>FKBP5</i>	rs992105	FK506 binding protein 5	0.829	0.259	0.468
	-	rs1360780		0.821	0.205	0.337
	<i>FKBP5/RP3-340B19.5</i>	rs737054	FK506 binding protein 5 / Gene RP3-340B19.5	1.258	0.209	0.273
	-	rs3777747		1.326	0.188	0.134
	<i>KHDC1/RP11-257K9.8</i>	rs2350753	KH homology domain containing 1 / Uncharacterized protein	0.980	0.310	0.948
	-	rs4235835	Intergenic variant	1.347	0.193	0.123
7	<i>CRHR2</i>	rs3779250	Corticotropin releasing hormone receptor 2	0.952	0.188	0.795
	-	rs2267710		1.102	0.192	0.613
	-	rs1076292		1.083	0.188	0.673
	-	rs2284217		1.290	0.221	0.248
9	-	rs7866605	Intergenic variant	3.028	0.847	0.191
	<i>NTRK2</i>	rs1211166	Neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2	0.946	0.244	0.819
11	<i>TPH1</i>	rs10488683	Tryptophan hydroxylase 1	0.882	0.184	0.494
	-	rs211107		1.262	0.184	0.206
	-	rs623580		0.614	0.219	0.026
	-	rs652458		1.250	0.185	0.228
	-	rs7110238	Intergenic variant	0.877	0.189	0.486
	-	rs11024460	Intergenic variant	0.945	0.209	0.786
	<i>SAAL1</i>	rs951624	Serum amyloid A-like 1	1.455	0.327	0.252
	<i>BDNF/BDNF-AS</i>	rs6265	Brain-derived neurotrophic factor / BDNF antisense RNA	0.955	0.240	0.847
	<i>RP11-587D21.4/BDNF</i>	rs10767664	Gene RP11-587D21.4 / Brain-derived neurotrophic factor	0.900	0.226	0.640
	<i>MTCH2</i>	rs3817334	Mitochondrial carrier 2	0.839	0.209	0.401
12	<i>TBC1D15</i>	rs3759171	TBC1 domain family, member 15	1.003	0.203	0.989
	-	rs10506643		0.843	0.330	0.604
	<i>TPH2</i>	rs2129575	Tryptophan hydroxylase 2	0.948	0.246	0.829
	-	rs1386493		1.102	0.241	0.687
	-	rs6582078		0.940	0.188	0.741
	-	rs1386497		0.846	0.273	0.540
	-	rs1487278		0.979	0.238	0.930
	-	rs1386482		1.299	0.198	0.187
	-	rs1872824		0.988	0.196	0.952

(Continued)

**Table 1S.** (Continued).

Chr	Gene	SNP	Description	MDD			
				OR	SE	P-value	
13	- <i>HTR2A</i>	rs9526236	Intergenic variant	0.657	0.189	0.027	
		rs3125	5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 2A, G protein-coupled	1.056	0.239	0.820	
		rs6314		0.871	0.344	0.688	
		rs977003		1.366	0.183	0.088	
		rs9567735		1.221	0.243	0.411	
		rs582385		1.276	0.233	0.296	
		rs731779		0.595	0.280	0.064	
		rs9534505		0.722	0.376	0.386	
		rs2070037		0.743	0.244	0.222	
		rs6311		0.944	0.183	0.754	
		rs1328685		0.902	0.288	0.720	
		<i>HTR2A/HTR2A-AS1</i>	rs7330636	5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 2A, G protein-coupled / HTR2A antisense RNA 1	1.257	0.193	0.236
			rs2296972		0.899	0.223	0.634
			rs659734		1.365	0.344	0.366
-	rs2149434	Regulatory region variant	1.013	0.196	0.946		
-	rs943903	Intergenic variant	1.014	0.196	0.944		
15	<i>MAP2K5</i>	rs2241423	Mitogen-activated protein kinase kinase 5	1.117	0.211	0.601	
16	- <i>SH2B1</i> <i>ATP2A1/SH2B1</i>	rs12444979	Intergenic variant	0.957	0.281	0.877	
		rs7498665	SH2B adaptor protein 1	0.968	0.199	0.872	
		rs7359397	ATPase, Ca++ transporting, cardiac muscle, fast twitch 1 / SH2B adaptor protein 1	0.916	0.201	0.661	
17	<i>CRHR1/RP11-105N13</i>	rs12953076	Corticotropin releasing hormone receptor 1 / Gene RP11-105N13	0.942	0.229	0.794	
		rs4076452		0.944	0.230	0.801	
		rs12942300		0.653	0.322	0.186	
		rs7209436		1.540	0.188	0.022	
		rs4792887		0.944	0.284	0.838	
		rs110402		1.487	0.190	0.036	
		rs242924		1.502	0.191	0.033	
		rs242939		0.691	0.372	0.320	
		<i>CRHR1</i>	rs173365	Corticotropin releasing hormone receptor 1	1.526	0.192	0.027
			rs1396862		0.895	0.212	0.601
			rs1876831		0.911	0.186	0.616
			rs17689966		1.524	0.190	0.026
			rs1876828		1.034	0.201	0.866
18	-	rs17782313	Intergenic variant	1.207	0.220	0.392	
19	<i>QPCTL</i>	rs2287019	Glutaminyl-peptide cyclotransferase-like	0.952	0.242	0.840	
22	<i>COMT/MIR4761</i>	rs4680	Catechol-O-methyltransferase / MicroRNA 4761	1.040	0.195	0.839	
X	<i>HTR2C</i>	rs508865	5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 2C, G protein-coupled	1.333	0.217	0.184	
		rs505971		1.336	0.217	0.182	
		rs12858300		1.484	0.396	0.319	
		rs12688102		1.210	0.219	0.384	
		rs12833104		0.873	0.305	0.655	
		rs6318		1.468	0.260	0.140	
		rs2428712		1.445	0.266	0.167	
		rs5946018		1.477	0.263	0.137	
		rs1801412		1.650	0.400	0.211	

**Notes:** - indicates the specific SNP is not located in a gene, it is an intergenic variant.

**Abbreviations:** Chr, chromosome; MDD, major depressive disorder; OR, odds ratio; SE, standard error; SNP, single nucleotide polymorphism.

## ***V. Discusión general***

---



En la presente tesis se describen los primeros resultados genéticos del estudio Granada $\Sigma$ p, en el que se ha investigado cómo la variabilidad genética en determinados genes candidatos relacionados con procesos de neurodesarrollo y de plasticidad y regulación neuronal, así como en genes implicados en las vías de neurotransmisión monoaminérgica, podría suponer un incremento en el riesgo para sufrir DM. Concretamente, se han analizado dos genes clave de la neurotransmisión serotoninérgica (*SLC6A4* y *MAOA*) y 91 polimorfismos de tipo SNP en otros genes candidatos para DM en una muestra bien caracterizada de la población general de la provincia de Granada, en el sur de España.

Tal y como se ha señalado en la Introducción, a pesar de la gran cantidad de estudios de asociación genética depresión, la falta de resultados concluyentes pone de manifiesto la necesidad de seguir indagando sobre la posible asociación entre diferentes polimorfismos genéticos y esta enfermedad. Nuestro estudio se diseñó como un estudio de asociación basado en genes candidatos, una estrategia muy ventajosa ya que este tipo de estudios: i) son relativamente baratos y rápidos de realizar, ii) se basan en hallazgos previos que permiten hipotetizar sobre posibles genes de riesgo y la etiología de la enfermedad, y iii) tienen mayor poder para detectar efectos pequeños que los GWAS (Patnala et al., 2013). Además, los participantes incluidos en este estudio se obtuvieron de la población general y fueron muy bien caracterizados para variables clínicas, psicológicas, socio-demográficas, de estilo de vida, estrés psicosocial y otros aspectos ambientales.

## **1. Estudio de asociación genética entre el polimorfismo 5-HTTLPR y depresión mayor**

Los resultados de nuestro estudio muestran una mayor frecuencia de portadores del alelo S entre los casos de DM que entre los controles, aunque estas diferencias no alcanzaron la significación estadística. Aun así, es interesante destacar que esta tendencia va en la misma dirección que los resultados de estudios previos en los que se observa que los individuos portadores del genotipo

S/S tienen un mayor riesgo para DM (Cervilla et al., 2006; Gutiérrez et al., 1998; Zalsman et al., 2006) y niveles altos de neuroticismo (Lesch et al., 1996; Shifman et al., 2008). Además, apoyan estos hallazgos tres metaanálisis (Furlong et al., 1998; López-León et al., 2008; Lotrich & Pollock, 2004), así como múltiples evidencias de naturaleza neurobiológica. Por ejemplo, en relación al tratamiento farmacológico, el transportador de 5-HT es diana para la mayoría de los fármacos antidepresivos. Asimismo, se ha visto que el polimorfismo 5-HTTLPR puede influir en la respuesta al tratamiento con este tipo de fármacos (Burmeister et al., 2008; Kato & Serretti, 2010; Serretti et al., 2007). También se han encontrado evidencias que sugieren que cambios anatómicos y funcionales en la amígdala y corteza cingulada podrían estar modulados por el polimorfismo 5-HTTLPR y contribuir a un incremento de la vulnerabilidad para DM (Hariri & Holmes, 2006; Hariri et al., 2005; Pezawas et al., 2005).

No obstante, como se recoge en los metaanálisis de Anguelova et al. (2003) y Willis-Owen et al. (2005), también encontramos muchos estudios que han reportado resultados negativos con respecto a esta asociación del genotipo S/S y una mayor vulnerabilidad a la DM.

Esta inconsistencia en los resultados puede deberse a la heterogeneidad entre estudios, que posiblemente refleja diferencias en el diseño, el diagnóstico, la población usada como control, la diversidad étnica, así como posibles limitaciones relacionadas con el tamaño muestral, el efecto de posibles factores confusores, la selección de participantes con un objetivo diferente al original del estudio o la comorbilidad con otros trastornos. A esto además se suma la naturaleza compleja y heterogénea de los factores implicados en la etiología de la enfermedad y que no han sido tenidos en cuenta en muchos de los estudios realizados hasta la fecha. Entre estos se incluyen fenómenos epigenéticos, diferentes tipos de variación (CNVs, variantes raras,...), heterogeneidad fenotípica y alélica, y factores ambientales (Anguelova et al., 2003; Cohen-Woods et al., 2013; Flint & Kendler, 2014).

El no emplear la reclasificación alternativa del alelo L del polimorfismo 5-HTTLPR, donde se incorpora el SNP funcional rs25531 (A/G), podría suponer

también una limitación en el estudio. Sin embargo, algunos autores han reportado resultados similares utilizando la clasificación de individuos con este nuevo polimorfismo o con el método tradicional (Gutiérrez et al., 2015; Parsey et al., 2006).

Nuestros resultados, aunque parecen indicar que la variabilidad genética en el gen del transportador de 5-HT podría incrementar la vulnerabilidad para la DM, han de ser interpretados con cautela. Son necesarios más estudios de replicación en muestras independientes, y sobre todo estudios en los que se analice el posible papel modulador de este gen en determinadas circunstancias ambientales, para comprender mejor el papel del gen *SLC6A4* en la etiología de la DM.

## **2. Estudio de asociación genética entre el polimorfismo uMAOA y depresión mayor**

Nuestros resultados muestran una tendencia hacia la asociación entre los genotipos de alta actividad del polimorfismo uMAOA del gen *MAOA* y la DM, independientemente del sexo y la edad.

Estos resultados irían a favor de los descritos por autores previos en estudios que encuentran una asociación entre el gen *MAOA* y distintos trastornos mentales (Cohen-Woods et al., 2013). Así, varios estudios describen que los individuos portadores de alelos de alta actividad y los individuos homocigotos para alelos de alta actividad tienen un riesgo ligeramente incrementado para padecer DM, especialmente en mujeres (Rivera et al., 2009; Schulze et al., 2000; Yu et al., 2005) y en DM con síntomas melancólicos (Gutiérrez et al., 2004). Estos hallazgos también se ven apoyados por estudios neurobiológicos en los que se observa que la inhibición de la actividad MAOA con fármacos inhibidores del enzima (IMAOs) produce un efecto terapéutico en el tratamiento de los trastornos psiquiátricos en general, y en el de los trastornos afectivos en particular (Voltas et al., 2015). No obstante, también existen estudios que no encuentran apoyo para tal asociación (Christiansen et al., 2007).

Por otro lado, existen estudios que describen una correlación entre el polimorfismo uMAOA y distintos rasgos de personalidad como el neuroticismo, la impulsividad-agresividad (Manuck et al., 2000), o la personalidad antisocial (Checknita et al., 2015; Voltas et al., 2015). Un mal funcionamiento del gen *MAOA* se ha asociado con niveles incrementados de agresividad tanto en ratones como en humanos (Brunner et al., 1993; Cases et al., 1995; McDermott et al., 2009), así como con trastornos del comportamiento y comportamiento antisocial en hombres expuestos a adversidad ambiental (Caspi et al., 2002; Frazzetto et al., 2007; Kim-Cohen et al., 2006; Nilsson et al., 2015; Widom & Brzustowicz, 2006).

La ambigüedad en los resultados, como ya se ha comentado para el polimorfismo 5-HTTLPR, puede deberse tanto a la heterogeneidad entre estudios como a la heterogeneidad de los posibles factores causales. Como posible recurso para tratar de solventar este inconveniente, algunos investigadores han propuesto que se analicen más polimorfismos potencialmente funcionales además del uMAOA. Por ejemplo, se propuso el polimorfismo funcional T941G (rs6323) como buen candidato ya que estaba relacionado con la actividad de la enzima MAOA (Hotamisligil & Breakefield, 1991) y se había visto asociado de forma significativa con otro trastorno afectivo como es el trastorno bipolar (Lim et al., 1995; Rubinsztein et al., 1996). Sin embargo, su análisis no ha dado lugar a hallazgos positivos en DM (Sasaki et al., 1998; Tadic et al., 2003; Zhang et al., 2010).

Una vez más, la interpretación de los resultados de asociación obtenidos ha de hacerse con reservas, siendo imprescindible la realización de estudios que aborden específicamente los obstáculos encontrados.

### **3. Estudio de asociación genética entre 91 SNPs en genes candidatos y depresión mayor**

Los resultados de nuestro estudio no muestran asociaciones significativas entre ninguno de los 91 SNPs analizados y la DM. Sin embargo, siete de estos polimorfismos localizados en tres genes candidatos (rs623580 en el gen *TPH1*; rs9526236 cerca del gen *HTR2A*; y rs17689966, rs173365, rs7209436, rs110402 y



rs242924 en el gen *CRHR1*) mostraron una tendencia hacia la asociación. Además, encontramos dos combinaciones haplotípicas en el gen *CRHR1* que aumentaban significativamente el riesgo para sufrir DM en nuestra muestra, el haplotipo TATGA (rs7209436–rs110402–rs242924–rs173365–rs17689966) y el famoso haplotipo TAT del gen *CRHR1* (rs7209436–rs110402–rs242924) incluido en el haplotipo de cinco SNPs anterior.

En general, nuestros resultados apoyan hallazgos neuroquímicos previos que reportan que ciertas alteraciones en el sistema serotoninérgico y en el eje HHA están asociadas a la DM.

### **Asociación entre los genes *TPH1* y *HTR2A* y depresión mayor**

La tendencia hacia la asociación con DM de los dos polimorfismos localizados en los genes *TPH1* y *HTR2A* pone de manifiesto una posible implicación del sistema de neurotransmisión serotoninérgico en la etiología de esta enfermedad. Existen muchas evidencias previas al respecto, ya que las alteraciones en el sistema de la serotonina constituyen la anomalía neurobiológica más estudiada y consistentemente asociada con DM (López et al., 1998; Pariente & Lightman, 2008). Por ejemplo, se sabe que la 5-HT modula varias funciones relacionadas con la homeostasis y las respuestas al ambiente, a su vez ligadas a la DM, y que la mayoría de los fármacos antidepresivos influyen directa o indirectamente sobre la actividad serotoninérgica (Berger et al., 2009; Kato & Serretti, 2010). Es más, casi todos los compuestos sintetizados a lo largo del tiempo para inhibir la recaptación de serotonina han resultado ser antidepresivos clínicamente efectivos (Belmaker & Agam, 2008). Numerosas evidencias sugieren que alteraciones en el funcionamiento del sistema serotoninérgico están presentes en condiciones psiquiátricas como la depresión, la esquizofrenia, los trastornos obsesivo-compulsivos, así como en el suicidio y la agresividad (Wang et al., 2002).

El gen *TPH1* codifica una isoforma de la TPH, una enzima limitante en la biosíntesis del neurotransmisor serotonina (Andre et al., 2013; Kato & Serretti, 2010). El rs623580 (3804T/A) es una variante genética situada aguas arriba en una región reguladora dentro de la secuencia 5'-UTR del gen *TPH1* (Lai et al., 2005).

Estudios previos que implican a este polimorfismo han reportado resultados negativos de asociación con trastornos afectivos (Lai et al., 2005; Shi et al., 2008) y comportamiento suicida (Brent et al., 2010). Sin embargo, Kwak et al. (2012), en un GWAS de 8,842 individuos, encontraron que este polimorfismo estaba asociado con el índice de masa corporal (IMC), una medida de obesidad que ha sido asociada en numerosos estudios con DM (de Wit et al., 2010; Hung et al., 2014; Luppino et al., 2010; Opel et al., 2015). Además, la administración de triptófano y posterior estimulación de la producción de serotonina tiene un efecto antidepresivo, mientras que la inhibición de la TPH puede dar lugar a DM (Wang et al., 2002). Encontramos otra evidencia adicional sobre la relación entre el efecto antidepresivo y la actividad de la TPH en un estudio realizado por Kim et al. (2002), donde se observó que la expresión del enzima es aumentada por el tratamiento crónico con ISRS.

El gen *HTR2A* es particularmente interesante en el campo de la psiquiatría biológica por su papel como una importante diana para las drogas psicotrópicas y por mostrar una expresión alterada en muchos trastornos neuropsiquiátricos como DM y esquizofrenia (Anguelova et al., 2003; Bray et al., 2004; Norton & Owen, 2005). Éste está implicado en la regulación de la neurotransmisión serotoninérgica (Falkenberg et al., 2011) y en el eje HHA (Lanfumeij et al., 2008; Porter et al., 2004). Además, ha sido extensamente investigado en estudios de asociación de muchas condiciones psiquiátricas, aunque los resultados no son concluyentes y no nos permiten extraer conclusiones definitivas sobre la potencial implicación de este gen en la DM (Zhao et al., 2014).

En el presente estudio, el polimorfismo rs9526236 (*HTR2A*) mostró una tendencia hacia la asociación con DM. Aunque este polimorfismo no ha sido investigado en estudios previos, su localización aguas arriba de la región promotora del gen *HTR2A* y su posible implicación funcional lo hacen un buen candidato para ser investigado más en profundidad en futuros estudios dado que tanto la DM como algunos efectos antidepresivos están ligados a la funcionalidad de receptores 5HT<sub>2A</sub> (Kato & Serretti, 2010).

### **Asociación entre el gen *CRHR1* y depresión mayor**

De acuerdo con la hipótesis neuroendocrina de la depresión, las anomalías en la respuesta del cortisol al estrés pueden precipitar el origen de la DM (Belmaker & Agam, 2008).

En nuestro estudio, los resultados más sugerentes se obtuvieron con el gen *CRHR1*. Éste media respuestas a estrés y estimulación del eje HHA uniéndose su producto principalmente a la CRH (Schatzberg et al., 2014). Estudios previos han asociado varios SNPs y haplotipos en el gen *CRHR1* con el origen de la DM. Algunas combinaciones haplotípicas concretas aparecían sobrerrepresentadas en pacientes con DM en comparación con los controles (Ishitobi et al., 2012; Liu et al., 2007). Algunos autores han sugerido que la variación en el gen *CRHR1* podría modular la reactividad al estrés, y que la función alterada de este gen podría estar asociada a psicopatologías relacionadas con el estrés, como la ansiedad o los trastornos depresivos (Rogers et al., 2013). Asimismo, existen estudios que reportan una asociación de determinados haplotipos del *CRHR1* con la respuesta clínica al tratamiento antidepresivo (Licinio et al., 2004; Liu et al., 2007), o con la DM en individuos que han sufrido traumas durante la infancia (Bradley et al., 2008; Polanczyk et al., 2009). Más recientemente, diversos estudios se han centrado en explorar cómo el conocido haplotipo TAT (rs7209436–rs110402–rs242924) modera el efecto del trauma en la infancia sobre el riesgo para DM (Bradley et al., 2008; Kranzler et al., 2011; Nugent et al., 2011; Patnala et al., 2013; Polanczyk et al., 2009). Este mismo haplotipo, sin embargo, parece tener un efecto protector para DM en individuos afro-americanos (Bradley et al., 2008; Kranzler et al., 2011).

Aunque aún se necesita una comprensión profunda de la naturaleza de las relaciones entre los dos sistemas, serotoninérgico y eje HHA, se sabe que el funcionamiento del eje HHA puede ser modulado por varias moléculas señalizadoras neuronales como la serotonina (Leonard & Myint, 2009), y viceversa, que la actividad serotoninérgica puede ser modulada por el eje HHA (ej. las concentraciones de serotonina en el SNC pueden disminuir tras una estimulación del metabolismo del triptófano inducido por glucocorticoides) (Green et al., 1975). Esta relación podría hacernos pensar en un posible efecto epistático

entre los genes *TPH1*, *HTR2A* y *CRHR1*, que juntos podrían conferir un riesgo mayor para DM que de manera independiente.

#### **4. ¿Por qué es tan difícil identificar las bases genéticas de la depresión mayor?**

La comprensión de las bases genéticas de los trastornos mentales ha experimentado un importante avance en los últimos años. Distintos alelos de riesgo, tanto en genes candidatos como en nuevos genes descritos desde estudios GWAS, han sido identificados por diversos autores (CONVERGE consortium et al., 2015; Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2013; Major Depressive Disorder Working Group of the Psychiatric GWAS Consortium, 2013; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014). Sin embargo, estas variantes no son suficientes para explicar las causas de dichos trastornos dado que, por un lado, esperamos que existan otras variantes implicadas todavía no identificadas y, por otro, existen factores ambientales que ejercen su efecto en interacción con esos factores genéticos (Sullivan et al., 2012).

Un problema común en los estudios de psiquiatría genética es que los efectos genéticos esperados son pequeños y por lo tanto su detección pasa por el análisis de muestras grandes que garanticen el suficiente poder estadístico. Este hecho ha determinado el llamamiento desde distintas organizaciones científicas para conseguir la colaboración internacional con el objetivo de aunar esfuerzos, establecer sinergias y unir información de diferentes estudios para desarrollar nuevas estrategias de análisis (por ejemplo, meta, mega-análisis y GEWIS) que nos permitan conocer mejor las causas de estas enfermedades (Sullivan et al., 2000; Sullivan et al., 2012).

En nuestro estudio en concreto, la principal limitación era el pequeño tamaño muestral, que limita el poder para detectar efectos pequeños e incluso moderados. Asimismo, se investigó un número reducido de SNPs candidatos. Aunque priorizamos la replicación de asociaciones previas entre genes clave y DM, otros genes procedentes de rutas metabólicas teóricamente relevantes (genes ya

conocidos o genes nuevos identificados en GWAS recientes) podrían no haber sido incluidos en los análisis.

En la DM, a pesar del gran número de estudios de asociación y los casi 200 genes analizados desde la perspectiva de candidatos posicionales, sólo unos pocos *loci* han dado lugar a resultados robustos. Sólo siete genes (*5HTTP/SLC6A4*, *APOE*, *DRD4*, *GNB3*, *HTR1A*, *MTHFR* y *SLC6A3*) alcanzaron significación estadística en un reciente metaanálisis (Flint & Kendler, 2014). Incluso en el mayor análisis realizado hasta el momento por el PGC tampoco se encontraron resultados positivos a pesar de contar con casi 20,000 individuos en la fase de descubrimiento, y cerca de 6,800 casos de DM y 57,000 controles en el estudio de replicación (Major Depressive Disorder Working Group of the Psychiatric GWAS Consortium, 2013).

Hay una continua falta de consistencia entre los estudios de asociación para enfermedades multifactoriales como la DM, y es difícil extraer alguna conclusión fiable ya que los hallazgos positivos no tienden a ser replicados (Bosker et al., 2010; Munafò, 2006). Son varios los factores que podrían ser responsables de tal variación en los resultados: i) diferencias metodológicas entre estudios, ii) diversidad poblacional, iii) posibles errores de estudio, como la falta de suficiente poder estadístico para detectar efectos genéticos pequeños o incluso moderados debido al pequeño tamaño de la muestra, no tener en cuenta potenciales confusores, así como el uso de diferentes aproximaciones diagnósticas asociadas con la heterogeneidad del fenotipo de la DM, iv) fenómenos epigenéticos, v) CNVs, vi) variantes raras, vii) heterogeneidad fenotípica y alélica, viii) factores ambientales que no han sido considerados o por los que no se ha ajustado, ix) interacciones gen-gen o gen-ambiente (Anguelova et al., 2003; Cohen-Woods et al., 2013; Flint & Kendler, 2014).

Llegados a este punto, y sabiendo que existen otras enfermedades multifactoriales no psiquiátricas donde la investigación de sus bases genéticas ha sido más exitosa, nos planteamos qué tiene de especial la depresión para que su etiología siga aún siendo, en parte, un enigma por descifrar. Al comparar por ejemplo con la enfermedad de Crohn (*Crohn's disease*, CD por sus siglas en inglés),

una enfermedad inflamatoria crónica del tracto gastrointestinal perteneciente a un grupo de condiciones conocido como las enfermedades inflamatorias intestinales, nos damos cuenta de que existen cuatro puntos clave que marcan la diferencia (Franke et al., 2010; Van Limbergen, Wilson, & Satsangi, 2009). En la CD existe un diagnóstico claro que se consigue a través de tests objetivos y biopsia, mientras que en la depresión se llega al diagnóstico a través de una entrevista clínica y una evaluación. Además, el diagnóstico en la CD es un rotundo sí o no, mientras que cuando hablamos de depresión abarcamos un amplio espectro de trastornos depresivos. En tercer lugar, la CD tiene un elevado riesgo familiar  $\lambda_s=25$ , siendo  $\lambda_s$  el riesgo de recurrencia de la enfermedad en hermanos, frente al  $\lambda_s=2-7$  de la depresión. A esta diferencia en el riesgo familiar también se suma que la heredabilidad de la depresión depende de la severidad de la enfermedad. Por último, la CD es una enfermedad rara, con una prevalencia del 0.1%, mientras que la depresión es una enfermedad común, con una prevalencia en torno al 15% (Flint & Kendler, 2014; Van Limbergen et al., 2009; Wellcome Trust Case Control Consortium, 2007).

Del mismo modo, vemos que existen otros trastornos mentales donde el estudio de la genética ha dado mejores resultados (Kavanagh, Tansey, O'Donovan, & Owen, 2015; Sullivan et al., 2012). Sin ir más lejos, en la depresión con síntomas psicóticos, un subtipo de la enfermedad donde el diagnóstico principal sigue siendo depresión, el éxito se vaticina mayor. Como ya se ha discutido en la presente tesis, los investigadores en el campo de los trastornos afectivos están centrando su atención cada vez más en los diferentes subtipos clínicos de la enfermedad y otros fenotipos más acotados como estrategia para analizar subconjuntos de casos con una mayor homogeneidad clínica, y, con suerte, también genética (Craddock & Forty, 2006). Con el objetivo de sortear una de las razones primordiales para la no replicación de los hallazgos principales en la DM, la heterogeneidad del fenotipo clínico, se está optando por recurrir a subtipos clínicos de la DM que pueden constituir entidades nosológicas separadas con un perfil genético de riesgo y una respuesta al tratamiento antidepresivo específicos (Craddock & Forty, 2006; Domschke, 2013). La depresión psicótica tiene especial relevancia en el debate sobre los modelos de enfermedad categórico (trastornos

afectivos vs trastornos psicóticos) y dimensional (continuo depresión/trastorno bipolar/trastorno esquizoafectivo/esquizofrenia) (Domschke, 2013).

## 5. Perspectivas de futuro

A pesar de las dificultades, el campo de la psiquiatría genética está creciendo rápidamente, y cada vez disponemos de más avances en la tecnología y las estrategias usadas en investigación. Debido a la particular naturaleza de la DM, lo esencial es que las distintas disciplinas que aspiran a desentrañar las bases etiológicas de la enfermedad sean capaces de aunar fuerzas entre sí.

A grandes rasgos se puede decir que los estudios futuros en DM necesitarán tamaños muestrales más grandes, definiciones fenotípicas precisas y enfoques que tengan en cuenta otros posibles factores implicados. Para la obtención de mayores muestras se tiende a la centralización de trabajo en grandes consorcios internacionales como el PGC para DM. Para mayor homogeneidad genética se está tratando de usar endofenotipos y subtipos clínicos, así como grupos de síntomas y dimensiones psicopatológicas. Por ejemplo, algo bastante novedoso, y en lo que aún se ha de profundizar, es el uso de fenotipos básicos que probablemente existen a nivel celular. Recientemente se está pensando en el uso de células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) derivadas de neuronas y/o neuronas inducidas de fibroblastos para comprender mejor diversos aspectos de los trastornos psiquiátricos (Brennand, Simone, Tran, & Gage, 2012). Para tener en cuenta la gran variedad de factores, los investigadores están optando por un enfoque más global (interacciones gen-gen, análisis de rutas, G×E, epigenética) (Cohen-Woods et al., 2013).

En cuanto a la traslacionalidad, las aplicaciones más factibles derivan de la farmacogenética y las técnicas de *machine learning*. En el primer caso, su empleo podría permitir en muchos casos predecir la probabilidad de un individuo, según su perfil genético, de responder de forma adecuada y segura a determinados fármacos. La idea reside en adaptar el tratamiento farmacológico de la DM al perfil genético del paciente, lo que servirá para aumentar la eficacia y tolerabilidad de los

tratamientos (Biernacka et al., 2015). En el segundo caso, las técnicas de aprendizaje automático o *machine learning*, muy exitosas en otros campos, podrían ayudar a mejorar el manejo de la enfermedad. Estos métodos utilizan gran cantidad y diversidad de datos (anatómicos, fisiológicos, genéticos,...) para crear modelos que puedan identificar patrones complejos y predecir comportamientos futuros. En la DM, se podría por ejemplo intentar predecir la vulnerabilidad a DM usando diferente información como las señales de electroencefalograma (EEG) (Hosseinifard, Moradi, & Rostami, 2013) o datos de fMRI (Sato et al., 2015), identificar individuos con la enfermedad e individuos sin ella y predecir la eficacia del tratamiento (Patel, Khalaf, & Aizenstein, 2015).

Teniendo en cuenta todo lo anterior, esperamos que una combinación de las consideraciones expuestas pueda guiar hacia un enfoque más holístico y fiable, no sólo en el estudio de las causas de la DM, sino también en su diagnóstico, tratamiento y prevención.



## ***VI. Conclusiones***

---



## Conclusiones

1. Nuestros resultados muestran una tendencia hacia la asociación entre el polimorfismo 5-HTTLPR del gen *SLC6A4* y la DM. La frecuencia de portadores del alelo S fue mayor en el grupo de casos con DM que en el grupo control, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.
2. Nuestros resultados muestran una mayor frecuencia de genotipos de alta actividad del polimorfismo uMAOA del gen *MAOA* en el grupo de individuos con DM que en el grupo control, siendo esta tendencia no significativa. El análisis estratificado por sexos desveló que esta tendencia no significativa se encuentra tanto en hombres como en mujeres.
3. De los 91 SNPs candidatos analizados, siete SNPs localizados en tres genes candidatos (concretamente el rs623580 del gen *TPH1*; el rs9526236 del gen *HTR2A*; y los rs17689966, rs173365, rs7209436, rs110402 y rs242924 del gen *CRHR1*) mostraron una tendencia hacia la asociación con DM.
4. El análisis haplotípico del gen *CRHR1* desveló una asociación estadísticamente significativa entre dicho gen y la DM. En concreto, el haplotipo TATGA (al considerar los SNPs rs7209436–rs110402–rs242924–rs173365–rs17689966) y el haplotipo TAT (al considerar los SNPs rs7209436–rs110402–rs242924), aumentaban significativamente el riesgo para sufrir DM en nuestra muestra.
5. Los resultados genéticos de la fase piloto del estudio PISMA-ep apoyan la posible implicación del sistema serotoninérgico y del eje HHA en el origen de la DM.



## Conclusions

1. Our results show a suggestive trend towards association between the 5-HTTLPR polymorphism of the *SLC6A4* gene and MDD. The frequency of S-allele carriers was higher in the group of cases with MDD than in controls, although these differences were not statistically significant.
2. Our results show a higher frequency of high-activity genotypes of the uMAOA polymorphism at the *MAOA* gene in cases with MDD than in controls, being this trend not significant. The analysis stratified by gender revealed that this non-significant trend was present both in men and women.
3. Out of 91 candidate SNPs analyzed, seven SNPs located in three candidate genes (in particular, the rs623580 in *TPH1* gene; the rs9526236 in *HTR2A* gene; and rs17689966, rs173365, rs7209436, rs110402 and rs242924 in *CRHR1* gene) showed a trend towards association with MDD.
4. Haplotype analysis of *CRHR1* gene revealed a statistically significant association between such gene and MDD. In particular, the TATGA haplotype (including the SNPs rs7209436–rs110402–rs242924–rs173365–rs17689966) and the TAT haplotype (including the SNPs rs7209436–rs110402–rs242924) significantly increased the risk for MDD in our sample.
5. The genetic results of the PISMA-ep pilot study support the plausible involvement of both the serotonergic system and the HPA axis in the etiology of MDD.



## ***VII. Bibliografía***

---





## A

- Adell, A., Casanovas, J., & Artigas, F. (1997). Comparative study in the rat of the actions of different types of stress on the release of 5-HT in raphe nuclei and forebrain areas. *Neuropharmacology*, *36*(4-5), 735–741. [http://doi.org/10.1016/S0028-3908\(97\)00048-8](http://doi.org/10.1016/S0028-3908(97)00048-8)
- Agnafors, S., Comasco, E., Bladh, M., Sydsjö, G., Dekeyser, L., Orelund, L., & Svedin, C. G. (2013). Effect of gene, environment and maternal depressive symptoms on pre-adolescence behavior problems - a longitudinal study. *Child and Adolescent Psychiatry and Mental Health*, *7*(1), 10. <http://doi.org/10.1186/1753-2000-7-10>
- Aklillu, E., Karlsson, S., Zachrisson, O. O., Ozdemir, V., & Agren, H. (2009). Association of MAOA gene functional promoter polymorphism with CSF dopamine turnover and atypical depression. *Pharmacogenetics and Genomics*, *19*(4), 267–75. <http://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328328d4d3>
- Alasaari, J. S., Lagus, M., Ollila, H. M., Toivola, A., Kivimäki, M., Vahtera, J., ... Paunio, T. (2012). Environmental stress affects DNA methylation of a CpG rich promoter region of serotonin transporter gene in a nurse cohort. *PLoS One*, *7*(9), e45813. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0045813>
- Allgöwer, A., Wardle, J., & Steptoe, A. (2001). Depressive symptoms, social support, and personal health behaviors in young men and women. *Health Psychology: Official Journal of the Division of Health Psychology, American Psychological Association*, *20*(3), 223–227. <http://doi.org/10.1037/0278-6133.20.3.223>
- Almasy, L., & Blangero, J. (2001). Endophenotypes as quantitative risk factors for psychiatric disease: rationale and study design. *American Journal of Medical Genetics*, *105*(1), 42–4. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11424994>
- Alonso, J., Angermeyer, M. C., Bernert, S., Bruffaerts, R., Brugha, T. S., Bryson, H., ... Vollebergh, W. A. M. (2004). Disability and quality of life impact of mental disorders in Europe: results from the European Study of the Epidemiology of Mental Disorders (ESEMeD) project. *Acta Psychiatrica Scandinavica. Supplementum*, (420), 38–46. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0047.2004.00329.x>
- American Psychiatric Association. (2000). *DSM-IV-TR. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 4th edition TR*.
- American Psychiatric Association. (2013a). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.) [DSM-5]*. American Journal of Psychiatry (5th ed.). Washington, DC: American Psychiatric Publishing. Retrieved from <http://ajp.psychiatryonline.org/article.aspx?articleID=158714>
- American Psychiatric Association. (2013b). Global Assessment of Functioning (GAF).
- Amorim, P., Lecrubier, Y., Weiller, E., Hergueta, T., & Sheehan, D. (1998). DSM-IV-R Psychotic Disorders: procedural validity of the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI). Concordance and causes for discordance with the CIDI. *European Psychiatry: The Journal of the Association of European Psychiatrists*, *13*(1), 26–34. [http://doi.org/10.1016/S0924-9338\(97\)86748-X](http://doi.org/10.1016/S0924-9338(97)86748-X)
- Andre, K., Kampman, O., Viikki, M., Illi, A., Setälä-Soikkeli, E., Poutanen, O., ... Lehtimäki, T.

## Bibliografía

- (2013). TPH1 A218C polymorphism and temperament in major depression. *BMC Psychiatry*, 13, 118. <http://doi.org/10.1186/1471-244X-13-118>
- Anguelova, M., Benkelfat, C., & Turecki, G. (2003). A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter: I. Affective disorders. *Molecular Psychiatry*, 8(6), 574–91. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001328>
- Armsden, G. C., McCauley, E., Greenberg, M. T., Burke, P. M., & Mitchell, J. R. (1990). Parent and peer attachment in early adolescent depression. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 18(6), 683–97. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2074346>
- Autry, A. E., & Monteggia, L. M. (2012). Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacological Reviews*, 64(2), 238–58. <http://doi.org/10.1124/pr.111.005108>
- Azmitia, E. C. (1999). Serotonin neurons, neuroplasticity, and homeostasis of neural tissue. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 21(2 Suppl), 33S–45S. [http://doi.org/10.1016/S0893-133X\(99\)00022-6](http://doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00022-6)
- ## B
- Baca, E. (2004). Medicina genómica y Psiquiatría. In *Segovia JM, Mora F, Ochoa y la medicina clínica* (pp. 117–131). Madrid, España: Farmaindustria Serie Científica.
- Barney, L. J., Griffiths, K. M., Jorm, A. F., & Christensen, H. (2006). Stigma about depression and its impact on help-seeking intentions. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*, 40(1), 51–54. <http://doi.org/10.1111/j.1440-1614.2006.01741.x>
- Barona, A., Reynolds, C. R., & Chastain, R. (1984). A demographically based index of premorbid intelligence for the WAIS—R. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 52(5), 885–887.
- Barth, J., Schumacher, M., & Herrmann-Lingen, C. (2004). Depression as a risk factor for mortality in patients with coronary heart disease: a meta-analysis. *Psychosomatic Medicine*, 66(6), 802–813. <http://doi.org/10.1097/01.psy.0000146332.53619.b2>
- Bartova, L., Berger, A., & Pezawas, L. (2010). Is there a personalized medicine for mood disorders? *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 260 Suppl , S121–6. <http://doi.org/10.1007/s00406-010-0152-8>
- Bauldry, S. (2015). Variation in the Protective Effect of Higher Education against Depression. *Society and Mental Health*, 5(2), 145–161. <http://doi.org/10.1177/2156869314564399>
- Belmaker, R. H., & Agam, G. (2008). Major depressive disorder. *The New England Journal of Medicine*, 358(1), 55–68. <http://doi.org/10.1056/NEJMra073096>
- Bennett, A. J., Lesch, K. P., Heils, A., Long, J. C., Lorenz, J. G., Shoaf, S. E., ... Higley, J. D. (2002). Early experience and serotonin transporter gene variation interact to influence primate CNS function. *Molecular Psychiatry*, 7(1), 118–22. <http://doi.org/10.1038/sj/mp/4000949>

- Berger, M., Gray, J. A., & Roth, B. L. (2009). The expanded biology of serotonin. *Annual Review of Medicine*, *60*, 355–366. <http://doi.org/10.1146/annurev.med.60.042307.110802>
- Berrios, G. E. (1988). Melancholia and depression during the 19th century: A conceptual history. *British Journal of Psychiatry*, *153*, 298–304. <http://doi.org/10.1192/bjp.153.3.298>
- Berrios, G. E., & Hauser, R. (1988). The early development of Kraepelin's ideas on classification: a conceptual history. *Psychological Medicine*, *18*(4), 813–821. <http://doi.org/10.1017/S0033291700009740>
- Bevilacqua, L., & Goldman, D. (2011). Genetics of emotion. *Trends in Cognitive Sciences*, *15*(9), 401–8. <http://doi.org/10.1016/j.tics.2011.07.009>
- Biegon, A., & Fieldust, S. (1992). Reduced tyrosine hydroxylase immunoreactivity in locus coeruleus of suicide victims. *Synapse (New York, N.Y.)*, *10*(1), 79–82. <http://doi.org/10.1002/syn.890100111>
- Biernacka, J. M., Sangkuhl, K., Jenkins, G., Whaley, R. M., Barman, P., Batzler, A., ... Weinshilboum, R. (2015). The International SSRI Pharmacogenomics Consortium (ISPC): a genome-wide association study of antidepressant treatment response. *Translational Psychiatry*, *5*, e553. <http://doi.org/10.1038/tp.2015.47>
- Biesecker, L. G. (2010). Exome sequencing makes medical genomics a reality. *Nature Genetics*, *42*(1), 13–4. <http://doi.org/10.1038/ng0110-13>
- Bilbao, A., & Seisdedos, N. (2004). [The efficacy of a formula for estimating premorbid intelligence in the Spanish population]. *Revista de Neurología*, *38*(5), 431–4. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15029520>
- Binder, E. B., & Nemeroff, C. B. (2010). The CRF system, stress, depression and anxiety—insights from human genetic studies. *Molecular Psychiatry*, *15*(6), 574–88. <http://doi.org/10.1038/mp.2009.141>
- Bjelland, I., Krokstad, S., Mykletun, A., Dahl, A. A., Tell, G. S., & Tambs, K. (2008). Does a higher educational level protect against anxiety and depression? The HUNT study. *Social Science & Medicine* (1982), *66*(6), 1334–45. <http://doi.org/10.1016/j.socscimed.2007.12.019>
- Blaxter, M. (1990). *Health and Lifestyles*. London: Routledge.
- Blazer, D., Burchett, B., Service, C., & George, L. K. (1991). The association of age and depression among the elderly: an epidemiologic exploration. *Journal of Gerontology*, *46*(6), M210–M215. <http://doi.org/10.1093/geronj/46.6.M210>
- Blom, M. B. J., Spinhoven, P., Hoffman, T., Jonker, K., Hoencamp, E., Haffmans, P. M. J., & van Dyck, R. (2007). Severity and duration of depression, not personality factors, predict short term outcome in the treatment of major depression. *Journal of Affective Disorders*, *104*(1-3), 119–26. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2007.03.010>
- Bortolozzi, A., Castañé, A., Semakova, J., Santana, N., Alvarado, G., Cortés, A., ... Artigas, F. (2012). Selective siRNA-mediated suppression of 5-HT<sub>1A</sub> autoreceptors evokes strong anti-depressant-like effects. *Molecular Psychiatry*, *17*(6), 612–23. <http://doi.org/10.1038/mp.2011.92>

## Bibliografía

- Bosker, F., Hartman, C., Nolte, I., Prins, B., Terpstra, P., Posthuma, D., ... Nolen, W. (2010). Poor replication of candidate genes for major depressive disorder using genome-wide association data. *Molecular Psychiatry*, *16*, 516–532. <http://doi.org/10.1038/mp.2010.38>
- Bostwick, J. M., & Pankratz, V. S. (2000). Affective disorders and suicide risk: a reexamination. *The American Journal of Psychiatry*, *157*(12), 1925–1932. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.12.1925>
- Boyce, P., Parker, G., Barnett, B., Cooney, M., & Smith, F. (1991). Personality as a vulnerability factor to depression. *The British Journal of Psychiatry*, *159*(1), 106–114. <http://doi.org/10.1192/bjp.159.1.106>
- Bracke, P., Pattyn, E., & von dem Knesebeck, O. (2013). Overeducation and depressive symptoms: diminishing mental health returns to education. *Sociology of Health & Illness*, *35*(8), 1242–59. <http://doi.org/10.1111/1467-9566.12039>
- Bradley, R. G., Binder, E. B., Epstein, M. P., Tang, Y., Nair, H. P., Liu, W., ... Binder, G. (2008). Influence of child abuse on adult depression: moderation by the corticotropin-releasing hormone receptor gene. *Archives of General Psychiatry*, *65*(2), 190. <http://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2007.26>
- Brand, J. E., & Xie, Y. (2010). Who benefits most from college? Evidence for negative selection in heterogeneous economic returns to higher education. *American Sociological Review*, *75*(2), 273–302. <http://doi.org/10.1177/0003122410363567>
- Bray, N. J., Buckland, P. R., Hall, H., Owen, M. J., & O'Donovan, M. C. (2004). The serotonin-2A receptor gene locus does not contain common polymorphism affecting mRNA levels in adult brain. *Molecular Psychiatry*, *9*(1), 109–14. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001366>
- Brennand, K. J., Simone, A., Tran, N., & Gage, F. H. (2012). Modeling psychiatric disorders at the cellular and network levels. *Molecular Psychiatry*, *17*(12), 1239–53. <http://doi.org/10.1038/mp.2012.20>
- Brent, D., Melhem, N., Ferrell, R., Emslie, G., Wagner, K. D., Ryan, N., ... Keller, M. (2010). Association of FKBP5 polymorphisms with suicidal events in the Treatment of Resistant Depression in Adolescents (TORDIA) study. *The American Journal of Psychiatry*, *167*(2), 190–7. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.2009.09040576>
- British Medical Association and the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. (2009). *British Medical Association and the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. British National Formulary (BNF 57)*. London: BMJ Group & RPS Publishing. Retrieved from [http://www.esoph.org/af/books/BNF\\_57.pdf](http://www.esoph.org/af/books/BNF_57.pdf)
- Brown, G., & Harris, T. (1978). *Social origins of depression: a study of psychiatric disorder in women* (1st ed.). London: Tavistock Publications Limited.
- Brugha, T., Bebbington, P., Tennant, C., & Hurry, J. (1985). The List of Threatening Experiences: a subset of 12 life event categories with considerable long-term contextual threat. *Psychological Medicine*, *15*(1), 189–94. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3991833>
- Brugha, T. S., & Cragg, D. (1990). The List of Threatening Experiences: the reliability and validity of a brief life events questionnaire. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *82*(1), 77–

81. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2399824>

- Brummett, B. H., Krystal, A. D., Siegler, I. C., Kuhn, C., Surwit, R. S., Züchner, S., ... Williams, R. B. (2007). Associations of a regulatory polymorphism of monoamine oxidase-A gene promoter (MAOA-uVNTR) with symptoms of depression and sleep quality. *Psychosomatic Medicine*, *69*(5), 396–401. <http://doi.org/10.1097/PSY.0b013e31806d040b>
- Brunner, H., Nelen, M., Breakefield, X., Ropers, H., & van Oost, B. (1993). Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A. *Science*, *262*(5133), 578–580. <http://doi.org/10.1126/science.8211186>
- Bulloch, A. G., Williams, J. V, Lavorato, D. H., & Patten, S. B. (2009). The relationship between major depression and marital disruption is bidirectional. *Depress Anxiety*, *26*(12), 1172–1177. <http://doi.org/10.1002/da.20618>
- Burmeister, M., McInnis, M. G., & Zöllner, S. (2008). Psychiatric genetics: progress amid controversy. *Nature Reviews. Genetics*, *9*(7), 527–540. <http://doi.org/10.1038/nrg2381>
- Burton, R. (1989). *The Anatomy of Melancholy. Psychiatric Bulletin* (Vol. 24). Clarendon Press.
- Byrd, A. L., & Manuck, S. B. (2014). MAOA, childhood maltreatment, and antisocial behavior: meta-analysis of a gene-environment interaction. *Biological Psychiatry*, *75*(1), 9–17. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.05.004>
- Byrne, M., Agerbo, E., & Mortensen, P. B. (2002). Family history of psychiatric disorders and age at first contact in schizophrenia: an epidemiological study. *The British Journal of Psychiatry. Supplement*, *43*, s19–25. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12271795>

## C

- Calabrese, F., van der Doelen, R. H. A., Guidotti, G., Racagni, G., Kozicz, T., Homberg, J. R., & Riva, M. A. (2015). Exposure to early life stress regulates Bdnf expression in SERT mutant rats in an anatomically selective fashion. *Journal of Neurochemistry*, *132*(1), 146–154. <http://doi.org/10.1111/jnc.12846>
- Canli, T., & Lesch, K. P. (2007). Long story short: the serotonin transporter in emotion regulation and social cognition. *Nature Neuroscience*, *10*(9), 1103–9. <http://doi.org/10.1038/nn1964>
- Cannon, T. D., Mednick, S. A., Parnas, J., Schulsinger, F., Praestholm, J., & Vestergaard, A. (1993). Developmental brain abnormalities in the offspring of schizophrenic mothers. I. Contributions of genetic and perinatal factors. *Archives of General Psychiatry*, *50*(7), 551–64. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8317949>
- Cannon, T., Mednick, S., & Parnas, J. (1990). Two pathways to schizophrenia in children at risk. In L. Robins & M. Rutter (Eds.), *Straight and devious pathways from childhood to adulthood* (pp. 328–350). Cambridge: Cambridge University Press.
- Cases, O., Seif, I., Grimsby, J., Gaspar, P., Chen, K., Pournin, S., ... Shih, J. C. (1995). Aggressive

## Bibliografía

- behavior and altered amounts of brain serotonin and norepinephrine in mice lacking MAOA. *Science (New York, N.Y.)*, 268(5218), 1763–6. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2844866&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Caspi, A., Hariri, A. R., Holmes, A., Uher, R., & Moffitt, T. E. (2010). Genetic sensitivity to the environment: the case of the serotonin transporter gene and its implications for studying complex diseases and traits. *American Journal of Psychiatry*, 167(5), 509–527. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.09101452>
- Caspi, A., McClay, J., Moffitt, T. E., Mill, J., Martin, J., Craig, I. W., ... Poulton, R. (2002). Role of genotype in the cycle of violence in maltreated children. *Science (New York, N.Y.)*, 297(5582), 851–4. <http://doi.org/10.1126/science.1072290>
- Caspi, A., & Moffitt, T. E. (2006). Gene-environment interactions in psychiatry: joining forces with neuroscience. *Nature Reviews. Neuroscience*, 7(7), 583–90. <http://doi.org/10.1038/nrn1925>
- Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T. E., Taylor, A., Craig, I. W., Harrington, H., ... Poulton, R. (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science (New York, N.Y.)*, 301(5631), 386–9. <http://doi.org/10.1126/science.1083968>
- Cassano, P., & Fava, M. (2002). Depression and public health. *Journal of Psychosomatic Research*, 53(4), 849–857. [http://doi.org/10.1016/S0022-3999\(02\)00304-5](http://doi.org/10.1016/S0022-3999(02)00304-5)
- Castellanos, F. X., & Tannock, R. (2002). Neuroscience of attention-deficit/hyperactivity disorder: the search for endophenotypes. *Nature Reviews. Neuroscience*, 3(8), 617–28. <http://doi.org/10.1038/nrn896>
- Castrén, E. (2005). Is mood chemistry? *Nature Reviews. Neuroscience*, 6(3), 241–6. <http://doi.org/10.1038/nrn1629>
- Castrén, E., & Rantamäki, T. (2010). Role of brain-derived neurotrophic factor in the aetiology of depression: implications for pharmacological treatment. *CNS Drugs*, 24(1), 1–7. <http://doi.org/10.2165/11530010-000000000-00000>
- Castrén, E., Võikar, V., & Rantamäki, T. (2007). Role of neurotrophic factors in depression. *Current Opinion in Pharmacology*, 7(1), 18–21. <http://doi.org/10.1016/j.coph.2006.08.009>
- Cervilla, J. A., & García-Ribera, C. (2000). *Fundamentos biológicos en psiquiatría*. Barcelona: Ed. Masson.
- Cervilla, J. A., Molina, E., Rivera, M., Torres-González, F., Belló N, J., Moreno, B., ... Gutiérrez, B. (2007). The risk for depression conferred by stressful life events is modified by variation at the serotonin transporter 5HTTLPR genotype: evidence from the Spanish PREDICT-Gene cohort. *Molecular Psychiatry*, 12(8), 748–55. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001981>
- Cervilla, J. A., Rivera, M., Molina, E., Torres-González, F., Bellón, J. A., Moreno, B., ... Gutiérrez, B. (2006). The 5-HTTLPR s/s genotype at the serotonin transporter gene (SLC6A4) increases the risk for depression in a large cohort of primary care attendees: the PREDICT-gene study. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of*

- Psychiatric Genetics*, 141B(8), 912–7. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.30455>
- Cervilla, J., Ruiz-Pérez, I., Rodríguez-Barranco, M., Rivera, M., Molina, E., Valmisa, E., ... Gutiérrez, B. (2015). Study Protocol and Methods in the Andalusian Epidemiological Mental Health Study: The PISMA-ep Study. *Revista de Psiquiatría Y Salud Mental*.
- Chaouloff, F., Berton, O., & Mormède, P. (1999). Serotonin and stress. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 21(2 Suppl), 28S–32S. [http://doi.org/10.1016/S0893-133X\(99\)00008-1](http://doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00008-1)
- Charlson, F. J., Stapelberg, N. J. C., Baxter, A. J., & Whiteford, H. A. (2011). Should global burden of disease estimates include depression as a risk factor for coronary heart disease? *BMC Medicine*, 9(1), 47. <http://doi.org/10.1186/1741-7015-9-47>
- Charney, D. S., & Manji, H. K. (2004). Life stress, genes, and depression: multiple pathways lead to increased risk and new opportunities for intervention. *Science's STKE: Signal Transduction Knowledge Environment*, 2004(225), re5. <http://doi.org/10.1126/stke.2252004re5>
- Checknita, D., Maussion, G., Labonté, B., Comai, S., Tremblay, R. E., Vitaro, F., ... Turecki, G. (2015). Monoamine oxidase A gene promoter methylation and transcriptional downregulation in an offender population with antisocial personality disorder. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 206(3), 216–22. <http://doi.org/10.1192/bjp.bp.114.144964>
- Chen, C., Glatt, S. J., & Tsuang, M. T. (2008). The tryptophan hydroxylase gene influences risk for bipolar disorder but not major depressive disorder: results of meta-analyses. *Bipolar Disorders*, 10(7), 816–21. <http://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2008.00623.x>
- Chen, K. (2004). Organization of MAO A and MAO B Promoters and Regulation of Gene Expression. *NeuroToxicology*, 25(1-2), 31–36. [http://doi.org/10.1016/S0161-813X\(03\)00113-X](http://doi.org/10.1016/S0161-813X(03)00113-X)
- Chen, L., Lawlor, D. A., Lewis, S. J., Yuan, W., Abdollahi, M. R., Timpson, N. J., ... Shugart, Y. Y. (2008). Genetic association study of BDNF in depression: finding from two cohort studies and a meta-analysis. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 147B(6), 814–21. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.30686>
- Chen, Z. Y., Jing, D., Bath, K. G., Ieraci, A., Khan, T., Siao, C. J., ... Lee, F. S. (2006). Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science (New York, N.Y.)*, 314(5796), 140–3. <http://doi.org/10.1126/science.1129663>
- Chial, H. (2008). Polygenic Inheritance and Gene Mapping. *Nature Education*, 1(1), 17. Retrieved from <http://www.nature.com/scitable/topicpage/polygenic-inheritance-and-gene-mapping-915>
- Chisholm, D. (2014). *Shocking stats on the prevalence of depression*. Nature Publishing Group. Retrieved from <http://www.nature.com/nature/podcast/v515/n7526/nature-2014-11-13.html>
- Christiansen, L., Tan, Q., Iachina, M., Bathum, L., Kruse, T. A., McGue, M., & Christensen, K. (2007). Candidate gene polymorphisms in the serotonergic pathway: influence on depression symptomatology in an elderly population. *Biological Psychiatry*, 61(2),

223–30. <http://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2006.03.046>

- Clancy, S., & Shaw, K. M. (2008). DNA deletion and duplication and the associated genetic disorders. *Nature Education*, 1(1), 23. Retrieved from <http://www.nature.com/scitable/topicpage/dna-deletion-and-duplication-and-the-associated-331>
- Clark, L. A., & Watson, D. (2008). Temperament: An organizing paradigm for trait psychology. In O. P. John, R. W. Robins, & L. A. Pervin (Eds.), *Handbook of personality: Theory and research* (3rd ed.) (pp. 265–286). Guilford Press.
- Clarke, H., Flint, J., Attwood, A. S., & Munafò, M. R. (2010). Association of the 5-HTTLPR genotype and unipolar depression: a meta-analysis. *Psychological Medicine*, 40(11), 1767–78. <http://doi.org/10.1017/S0033291710000516>
- Cockerham, W. C. (2005). Health lifestyle theory and the convergence of agency and structure. *Journal of Health and Social Behavior*, 46(1), 51–67. <http://doi.org/10.1177/002214650504600105>
- Cohen, S., Gotlieb, B. H., & Underwood, L. G. (2000). Social relationships and health. *Social Support Measurement and Intervention: A Guide for Health and Social Scientists*. [http://doi.org/10.1016/0277-9536\(92\)90365-W](http://doi.org/10.1016/0277-9536(92)90365-W)
- Cohen-Woods, S., Craig, I. W., & McGuffin, P. (2013). The current state of play on the molecular genetics of depression. *Psychological Medicine*, 43(04), 673–687. <http://doi.org/10.1017/S0033291712001286>
- Cole, J., Chaddock, C. A., Farmer, A. E., Aitchison, K. J., Simmons, A., McGuffin, P., & Fu, C. H. Y. (2012). White matter abnormalities and illness severity in major depressive disorder. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 201(1), 33–9. <http://doi.org/10.1192/bjp.bp.111.100594>
- Collins, P. P. Y., Patel, V., Joestl, S. S., March, D., Insel, T. R., Daar, A. S., ... Stein, D. J. (2011). Grand challenges in global mental health. *Nature*, 475(7354), 27–30. <http://doi.org/10.1038/475027a>
- Colloby, S. J., Firbank, M. J., Thomas, A. J., Vasudev, A., Parry, S. W., & O'Brien, J. T. (2011). White matter changes in late-life depression: a diffusion tensor imaging study. *Journal of Affective Disorders*, 135(1-3), 216–20. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2011.07.025>
- Conte, G., Vita, A., & Sacchetti, E. (1988). Interepisode reliability of urinary MHPG excretion in major depression. *Biological Psychiatry*, 24(2), 243–245. [http://doi.org/10.1016/0006-3223\(88\)90280-6](http://doi.org/10.1016/0006-3223(88)90280-6)
- CONVERGE consortium, Cai, N., Bigdeli, T. B., Kretschmar, W., Li, Y., Liang, J., ... Flint, J. (2015). Sparse whole-genome sequencing identifies two loci for major depressive disorder. *Nature*, 523(7562), 588–91. <http://doi.org/10.1038/nature14659>
- Craddock, N., & Forty, L. (2006). Genetics of affective (mood) disorders. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 14(6), 660–668. <http://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201549>
- Craft, L. L., & Perna, F. M. (2004). The benefits of exercise for the clinically depressed. *Primary Care Companion to the Journal of Clinical Psychiatry*, 6(3), 104–111. Retrieved from



<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=474733&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Craig, J. (2008). Complex diseases: research and applications. *Nature Education*, (1), 1. Retrieved from <http://www.nature.com/scitable/topicpage/complex-diseases-research-and-applications-748>

Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2013). Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet*, 381(9875), 1371–9. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)62129-1](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)62129-1)

Cuijpers, P., Huibers, M., Daniel Ebert, D., Koole, S. L., & Andersson, G. (2013). How much psychotherapy is needed to treat depression? A metaregression analysis. *Journal of Affective Disorders*, 149(1-3), 1–13. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2013.02.030>

Cuijpers, P., van Straten, A., Andersson, G., & van Oppen, P. (2008). Psychotherapy for depression in adults: a meta-analysis of comparative outcome studies. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 76(6), 909–922. <http://doi.org/10.1037/a0013075>

Cuthbert, B. N. (2014). Translating intermediate phenotypes to psychopathology: the NIMH Research Domain Criteria. *Psychophysiology*, 51(12), 1205–6. <http://doi.org/10.1111/psyp.12342>

## D

Dalton, V. S., Kolshus, E., & McLoughlin, D. M. (2014). Epigenetics and depression: return of the repressed. *Journal of Affective Disorders*, 155, 1–12. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2013.10.028>

Davison, K. (2006). Historical aspects of mood disorders. *Psychiatry*, 5(4), 115–118. <http://doi.org/10.1383/psyt.2006.5.4.115>

de Wit, L., Luppino, F., van Straten, A., Penninx, B., Zitman, F., & Cuijpers, P. (2010). Depression and obesity: a meta-analysis of community-based studies. *Psychiatry Research*, 178(2), 230–5. <http://doi.org/10.1016/j.psychres.2009.04.015>

Deckert, J., Catalano, M., Syagailo, Y. V., Bosi, M., Okladnova, O., Di Bella, D., ... Lesch, K. P. (1999). Excess of high activity monoamine oxidase A gene promoter alleles in female patients with panic disorder. *Human Molecular Genetics*, 8(4), 621–4. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10072430>

Deković, M., & Meeus, W. (1997). Peer relations in adolescents: effects of parenting and adolescents' self-concept. *Journal of Adolescence*, 20(2), 163–76. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9104652>

Delgado, P. L., & Moreno, F. A. (2006). Neurochemistry of Mood Disorders. In D. J. Stein, D. J. Kupfer, & A. F. Schatzberg (Eds.), *The American Psychiatric Publishing textbook of mood disorders*. (pp. 101–116). American Psychiatric Publishing, Inc. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=psych&AN=2005-15044-006&site=ehost-live>

Demyttenaere, K., Bruffaerts, R., Posada-Villa, J., Gasquet, I., Kovess, V., Lepine, J. P., ...

## Bibliografía

- Chatterji, S. (2004). Prevalence, severity, and unmet need for treatment of mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 291(21), 2581–2590. <http://doi.org/10.1001/jama.291.21.2581>
- Dick, D. M. (2011). Gene-environment interaction in psychological traits and disorders. *Annual Review of Clinical Psychology*, 7, 383–409. <http://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-032210-104518>
- Domschke, K. (2013). Clinical and molecular genetics of psychotic depression. *Schizophrenia Bulletin*, 39(4), 766–75. <http://doi.org/10.1093/schbul/sbt040>
- Donaldson, Z. R., & Hen, R. (2015). From psychiatric disorders to animal models: a bidirectional and dimensional approach. *Biological Psychiatry*, 77(1), 15–21. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.02.004>
- Duman, R. S. (2004). Depression: a case of neuronal life and death? *Biological Psychiatry*, 56(3), 140–5. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.02.033>

## E

- Engels, R. C. M. E., Deković, M., & Meeus, W. (2002). Parenting practices, social skills and peer relationships in adolescence. *Social Behavior and Personality: An International Journal*, 30(1), 3–17. <http://doi.org/10.2224/sbp.2002.30.1.3>
- Erbay, L. G., & Kartalci, S. (2015). Neurosteroid levels in patients with obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Investigation*, 12(4), 538–44. <http://doi.org/10.4306/pi.2015.12.4.538>
- Everson, S. A., Maty, S. C., Lynch, J. W., & Kaplan, G. A. (2002). Epidemiologic evidence for the relation between socioeconomic status and depression, obesity, and diabetes. *Journal of Psychosomatic Research*, 53(4), 891–5. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12377299>
- Ewing, J. A. (1984). Detecting alcoholism. The CAGE questionnaire. *JAMA*, 252(14), 1905–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6471323>

## F

- Falkenberg, V. R., Gurbaxani, B. M., Unger, E. R., Rajeevan, M. S., Mangalathu, @bullet, & Rajeevan, S. (2011). Functional genomics of serotonin receptor 2A (HTR2A): interaction of polymorphism, methylation, expression and disease association. *Neuromolecular Medicine*, 13(1), 66–76. <http://doi.org/10.1007/s12017-010-8138-2>
- Faravelli, C., Servi, P., Arends, J., & Strik, W. (1996). Number of symptoms, quantification, and qualification of depression. *Comprehensive Psychiatry*, 37(October), 307–315. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010440X96900115>
- Farmer, A., Redman, K., Harris, T., Mahmood, A., Sadler, S., Pickering, A., & McGuffin, P. (2002). Neuroticism, extraversion, life events and depression: The Cardiff Depression Study. *The British Journal of Psychiatry*, 181(2), 118–122. <http://doi.org/10.1192/bjp.181.2.118>

- Fava, G. A., Park, S. K., & Sonino, N. (2006). Treatment of recurrent depression. *Expert Review of Neurotherapeutics*. Department of Psychology, University of Bologna, Viale Berti Pichat 5,40127 Bologna, Italy. giovanniandrea.fava@unibo.it. <http://doi.org/10.1586/14737175.6.11.1735>
- Fava, M., & Kendler, K. S. (2000). Major Depressive Disorder. *Neuron*, 28(2), 335–341. [http://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)00112-4](http://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)00112-4)
- Felker, B., Yazel, J. J., & Short, D. (1996). Mortality and medical comorbidity among psychiatric patients: a review. *Psychiatric Services (Washington, D.C.)*, 47(12), 1356–1363.
- Fergusson, D. M., & Horwood, L. J. (1987). Vulnerability to life events exposure. *Psychological Medicine*, 17(03), 739. <http://doi.org/10.1017/S0033291700025976>
- Ferrari, A. J., Charlson, F. J., Norman, R. E., Patten, S. B., Freedman, G., Murray, C. J. L., ... Whiteford, H. A. (2013). Burden of depressive disorders by country, sex, age, and year: findings from the global burden of disease study 2010. *PLoS Medicine*, 10(11), e1001547. <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001547>
- Fink, L. A., Bernstein, D., Handelsman, L., Foote, J., & Lovejoy, M. (1995). Initial reliability and validity of the childhood trauma interview: a new multidimensional measure of childhood interpersonal trauma. *The American Journal of Psychiatry*, 152(9), 1329–35. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7653689>
- First, M. B., Spitzer, R. L., Gibbon, M., & Williams, J. B. W. (2002). Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders, Research Version, Patient Edition. (SCID-I/P). New York: Biometrics Research, New York State Psychiatric Institute.
- Flint, J., & Kendler, K. S. (2014). The Genetics of Major Depression. *NEURON*, 81, 484–503. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.01.027>
- Flint, J., & Munafò, M. R. (2006). The endophenotype concept in psychiatric genetics. *Psychological Medicine*, 37(02), 163. <http://doi.org/10.1017/S0033291706008750>
- Flint, J., Timpson, N., & Munafò, M. (2014). Assessing the utility of intermediate phenotypes for genetic mapping of psychiatric disease. *Trends in Neurosciences*, 37(12), 733–41. <http://doi.org/10.1016/j.tins.2014.08.007>
- Franke, A., McGovern, D. P. B., Barrett, J. C., Wang, K., Radford-Smith, G. L., Ahmad, T., ... Parkes, M. (2010). Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nature Genetics*, 42(12), 1118–25. <http://doi.org/10.1038/ng.717>
- Frazzetto, G., Di Lorenzo, G., Carola, V., Proietti, L., Sokolowska, E., Siracusano, A., ... Troisi, A. (2007). Early trauma and increased risk for physical aggression during adulthood: the moderating role of MAOA genotype. *PLoS One*, 2(5), e486. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0000486>
- Fried, E. I., & Nesse, R. M. (2014). Depression is not a consistent syndrome: An investigation of unique symptom patterns in the STAR\*D study. *Journal of Affective Disorders*, 172C, 96–102. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2014.10.010>
- Friedman, J. (2013). Noticias Cuatro. Spain: Noticias Cuatro. Retrieved from [http://www.cuatro.com/noticias/sociedad/Douglas\\_Coleman-Jeffrey\\_Friedman](http://www.cuatro.com/noticias/sociedad/Douglas_Coleman-Jeffrey_Friedman)

Fundacion\_BBVA-Fronteras\_del\_Conocimiento-Biomedicina-leptina-  
obesidad\_2\_1548780113.html

Fukuo, Y., Kishi, T., Yoshimura, R., Kitajima, T., Okochi, T., Yamanouchi, Y., ... Iwata, N. (2010). Serotonin 6 receptor gene and mood disorders: Case-control study and meta-analysis. *Neuroscience Research*, 67(3), 250–255. <http://doi.org/10.1016/j.neures.2010.04.003>

Furlong, R. A., Ho, L., Walsh, C., Rubinsztein, J. S., Jain, S., Paykel, E. S., ... 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(1), 58–63. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8628\(19980207\)81:1<58::AID-AJMG11>3.0.CO;2-V](http://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(19980207)81:1<58::AID-AJMG11>3.0.CO;2-V)

## G

Galea, S., Ahern, J., Rudenstine, S., Wallace, Z., & Vlahov, D. (2005). Urban built environment and depression: a multilevel analysis. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 59(10), 822–7. <http://doi.org/10.1136/jech.2005.033084>

Gan, Z., Li, Y., Xie, D., Shao, C., Yang, F., Shen, Y., ... Zhang, J. (2012). The impact of educational status on the clinical features of major depressive disorder among Chinese women. *Journal of Affective Disorders*, 136(3), 988–92. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2011.06.046>

Gandek, B., Ware, J. E., Aaronson, N. K., Apolone, G., Bjorner, J. B., Brazier, J. E., ... Sullivan, M. (1998). Cross-validation of item selection and scoring for the SF-12 Health Survey in nine countries: results from the IQOLA Project. International Quality of Life Assessment. *Journal of Clinical Epidemiology*, 51(11), 1171–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9817135>

Gatt, J. M., Burton, K. L. O., Williams, L. M., & Schofield, P. R. (2015). Specific and common genes implicated across major mental disorders: A review of meta-analysis studies. *Journal of Psychiatric Research*, 60, 1–13. <http://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.09.014>

Gaysina, D., Cohen, S., Craddock, N., Farmer, A., Hoda, F., Korszun, A., ... McGuffin, P. (2008). No association with the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene and major depressive disorder: results of the depression case control (DeCC) study and a meta-analysis. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 147B(6), 699–706. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.30665>

Gilbody, S., Lewis, S., & Lightfoot, T. (2007). Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genetic polymorphisms and psychiatric disorders: a HuGE review. *American Journal of Epidemiology*, 165(1), 1–13. <http://doi.org/10.1093/aje/kwj347>

Gold, P. W., Gwirtsman, H., Avgerinos, P. C., Nieman, L. K., Gallucci, W. T., Kaye, W., ... Loriaux, D. L. (1986). Abnormal hypothalamic-pituitary-adrenal function in anorexia nervosa. Pathophysiologic mechanisms in underweight and weight-corrected patients. *The New England Journal of Medicine*, 314(21), 1335–42. <http://doi.org/10.1056/NEJM198605223142102>

Goldberg, L. R. (1993). The structure of phenotypic personality traits. *The American*

- Psychologist*, 48(1), 26–34. <http://doi.org/10.1037/0003-066X.48.12.1302>
- Goldney, R. D., Fisher, L. J., & Wilson, D. H. (2001). Mental health literacy: An impediment to the optimum treatment of major depression in the community. *Journal of Affective Disorders*, 64(2-3), 277–284. [http://doi.org/10.1016/S0165-0327\(00\)00227-5](http://doi.org/10.1016/S0165-0327(00)00227-5)
- Gottesman, I. I., & Gould, T. D. (2003). The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *The American Journal of Psychiatry*, 160(4), 636–45. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.160.4.636>
- Grassi-Oliveira, R., Stein, L. M., Lopes, R. P., Teixeira, A. L., & Bauer, M. E. (2008). Low plasma brain-derived neurotrophic factor and childhood physical neglect are associated with verbal memory impairment in major depression--a preliminary report. *Biological Psychiatry*, 64(4), 281–5. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.02.023>
- Grav, S., Hellzèn, O., Romild, U., & Stordal, E. (2012). Association between social support and depression in the general population: the HUNT study, a cross-sectional survey. *Journal of Clinical Nursing*, 21(1-2), 111–20. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2702.2011.03868.x>
- Green, A. R., Sourkes, T. L., & Young, S. N. (1975). Liver and brain tryptophan metabolism following hydrocortisone administration to rats and gerbils. *British Journal of Pharmacology*, 53(2), 287–92. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1666303&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Griffiths, A., Gelbart, W., Miller, J., & Lewontin, R. (2000). *Genética Moderna* (1ª ed.). Madrid, España: McGraw-Hill Interamericana de España, SAU.
- Grigoriadis, S., & Robinson, G. E. (2007). Gender issues in depression. *Annals of Clinical Psychiatry: Official Journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists*, 19(4), 247–55. <http://doi.org/10.1080/10401230701653294>
- Grimsby, J., Chen, K., Wang, L. J., Lan, N. C., & Shih, J. C. (1991). Human monoamine oxidase A and B genes exhibit identical exon-intron organization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(May), 3637–3641. <http://doi.org/10.1073/pnas.88.9.3637>
- Grob, G. N. (1991). Origins of DSM-I: A study in appearance and reality. *American Journal of Psychiatry*, 148(4), 421. <http://doi.org/10.1176/ajp.148.4.421>
- Gu, L., Long, J., Yan, Y., Chen, Q., Pan, R., Xie, X., ... Su, L. (2013). HTR2A-1438A/G polymorphism influences the risk of schizophrenia but not bipolar disorder or major depressive disorder: a meta-analysis. *Journal of Neuroscience Research*, 91(5), 623–33. <http://doi.org/10.1002/jnr.23180>
- Guan, L., Wang, B., Chen, Y., Yang, L., Li, J., Qian, Q., ... Wang, Y. (2009). A high-density single-nucleotide polymorphism screen of 23 candidate genes in attention deficit hyperactivity disorder: suggesting multiple susceptibility genes among Chinese Han population. *Molecular Psychiatry*, 14(5), 546–54. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4002139>
- Guo, G., Ou, X. M., Roettger, M., & Shih, J. C. (2008). The VNTR 2 repeat in MAOA and delinquent behavior in adolescence and young adulthood: associations and MAOA

## Bibliografía

- promoter activity. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 16(5), 626–34. <http://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201999>
- Gutiérrez, B., Arias, B., Gastó, C., Catalán, R., Papiol, S., Pintor, L., & Fañanás, L. (2004). Association analysis between a functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter and severe mood disorders. *Psychiatric Genetics*, 14(4), 203–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15564894>
- Gutiérrez, B., Bellón, J. Á., Rivera, M., Molina, E., King, M., Marston, L., ... Cervilla, J. (2015). The risk for major depression conferred by childhood maltreatment is multiplied by BDNF and SERT genetic vulnerability: a replication study. *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, 40(3), 187–96. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4409436&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Gutiérrez, B., Pintor, L., Gastó, C., Rosa, A., Bertranpetit, J., Vieta, E., & Fañanás, L. (1998). Variability in the serotonin transporter gene and increased risk for major depression with melancholia. *Human Genetics*, 103(3), 319–22. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9799087>
- Gyekis, J. P., Yu, W., Dong, S., Wang, H., Qian, J., Kota, P., & Yang, J. (2013). No association of genetic variants in BDNF with major depression: a meta- and gene-based analysis. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 162B(1), 61–70. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.32122>
- ## H
- Haberstick, B. C., Lessem, J. M., Hewitt, J. K., Smolen, A., Hopfer, C. J., Halpern, C. T., ... Mullan Harris, K. (2014). MAOA genotype, childhood maltreatment, and their interaction in the etiology of adult antisocial behaviors. *Biological Psychiatry*, 75(1), 25–30. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.03.028>
- Hammen, C. (2005). Stress and depression. *Annual Review of Clinical Psychology*, 1, 293–319. <http://doi.org/10.1146/annurev.clinpsy.1.102803.143938>
- Hanson, I. M., Seawright, A., & van Heyningen, V. (1992). The human BDNF gene maps between FSHB and HVBS1 at the boundary of 11p13-p14. *Genomics*, 13(4), 1331–3. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1505967>
- Hariri, A. R., Drabant, E. M., Munoz, K. E., Kolachana, B. S., Mattay, V. S., Egan, M. F., & Weinberger, D. R. (2005). A susceptibility gene for affective disorders and the response of the human amygdala. *Archives of General Psychiatry*, 62(2), 146–52. <http://doi.org/10.1001/archpsyc.62.2.146>
- Hariri, A. R., & Holmes, A. (2006). Genetics of emotional regulation: the role of the serotonin transporter in neural function. *Trends in Cognitive Sciences*, 10(4), 182–91. <http://doi.org/10.1016/j.tics.2006.02.011>
- Hariri, A. R., Mattay, V. S., Tessitore, A., Kolachana, B., Fera, F., Goldman, D., ... Weinberger, D. R. (2002). Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science (New York, N.Y.)*, 297(5580), 400–3. <http://doi.org/10.1126/science.1071829>

- Haro, J. M., Palacín, C., Vilagut, G., Martínez, M., Bernal, M., Luque, I., ... Alonso, J. (2006). Prevalencia de los trastornos mentales y factores asociados: resultados del estudio ESEMeD-España. *Medicina Clínica*, *126*(12), 445–451. <http://doi.org/10.1157/13086324>
- Harwitz, D., & Ravizza, L. (2000). Suicide and depression. *Emergency Medicine Clinics of North America*, *18*(2), 263–71, ix. [http://doi.org/10.1016/S0733-8627\(05\)70123-1](http://doi.org/10.1016/S0733-8627(05)70123-1)
- Hasler, G., Drevets, W. C., Gould, T. D., Gottesman, I. I., & Manji, H. K. (2006). Toward constructing an endophenotype strategy for bipolar disorders. *Biological Psychiatry*, *60*(2), 93–105. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.11.006>
- Hasler, G., Drevets, W. C., Manji, H. K., & Charney, D. S. (2004). Discovering endophenotypes for major depression. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *29*(10), 1765–81. <http://doi.org/10.1038/sj.npp.1300506>
- Hasler, G., & Northoff, G. (2011). Discovering imaging endophenotypes for major depression. *Molecular Psychiatry*, *16*(6), 604–19. <http://doi.org/10.1038/mp.2011.23>
- Heatherton, T. F., Kozlowski, L. T., Frecker, R. C., & Fagerström, K. O. (1991). The Fagerström Test for Nicotine Dependence: a revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire. *British Journal of Addiction*, *86*(9), 1119–27. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1932883>
- Heinz, A., Deserno, L., & Reininghaus, U. (2013). Urbanicity, social adversity and psychosis. *World Psychiatry: Official Journal of the World Psychiatric Association (WPA)*, *12*(3), 187–97. <http://doi.org/10.1002/wps.20056>
- Heuser, I., Yassouridis, A., & Holsboer, F. (1994). The combined dexamethasone/CRH test: a refined laboratory test for psychiatric disorders. *Journal of Psychiatric Research*, *28*(4), 341–56. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7877114>
- Hindorff, L. A., Sethupathy, P., Junkins, H. A., Ramos, E. M., Mehta, J. P., Collins, F. S., & Manolio, T. A. (2009). Potential etiologic and functional implications of genome-wide association loci for human diseases and traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(23), 9362–7. <http://doi.org/10.1073/pnas.0903103106>
- Hirschfeld, R. M. (2000). History and evolution of the monoamine hypothesis of depression. *The Journal of Clinical Psychiatry*, *61* Suppl 6, 4–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10775017>
- Homberg, J. R., & Lesch, K. P. (2011). Looking on the Bright Side of Serotonin Transporter Gene Variation. *Biological Psychiatry*, *69*(6), 513–519. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.09.024>
- Hosang, G. M., Korszun, A., Jones, L., Jones, I., McGuffin, P., & Farmer, A. E. (2012). Life-event specificity: bipolar disorder compared with unipolar depression. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, *201*(6), 458–65. <http://doi.org/10.1192/bjp.bp.112.111047>
- Hosang, G. M., Shiles, C., Tansey, K. E., McGuffin, P., & Uher, R. (2014). Interaction between stress and the BDNF Val66Met polymorphism in depression: a systematic review and

- meta-analysis. *BMC Medicine*, 12(1), 7. <http://doi.org/10.1186/1741-7015-12-7>
- Hosseini-fard, B., Moradi, M. H., & Rostami, R. (2013). Classifying depression patients and normal subjects using machine learning techniques and nonlinear features from EEG signal. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 109(3), 339–45. <http://doi.org/10.1016/j.cmpb.2012.10.008>
- Hotamisligil, G. S., & Breakefield, X. O. (1991). Human monoamine oxidase A gene determines levels of enzyme activity. *American Journal of Human Genetics*, 49(2), 383–92. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1683299&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Hu, X. Z., Rush, A. J., Charney, D., Wilson, A. F., Sorant, A. J. M., Papanicolaou, G. J., ... Lipsky, R. H. (2007). Association Between a Functional Serotonin Transporter Promoter Polymorphism and Citalopram Treatment in Adult Outpatients With Major Depression. *Archives of General Psychiatry*, 64(7), 783. <http://doi.org/10.1001/archpsyc.64.7.783>
- Hudson, C. G. (2005). Socioeconomic status and mental illness: tests of the social causation and selection hypotheses. *The American Journal of Orthopsychiatry*, 75(1), 3–18. <http://doi.org/10.1037/0002-9432.75.1.3>
- Hudson, D. L., Neighbors, H. W., Geronimus, A. T., & Jackson, J. S. (2012). The relationship between socioeconomic position and depression among a US nationally representative sample of African Americans. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 47(3), 373–81. <http://doi.org/10.1007/s00127-011-0348-x>
- Hung, C. F., Rivera, M., Craddock, N., Owen, M. J., Gill, M., Korszun, A., ... McGuffin, P. (2014). Relationship between obesity and the risk of clinically significant depression: Mendelian randomisation study. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 205(1), 24–8. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4076654&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Hyman, S. E. (2000). The genetics of mental illness: implications for practice. *Bulletin of the World Health Organization*, 78(4), 455–63. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2560734&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- I
- Ibarra-Rovillard, M. S., & Kuiper, N. A. (2011). Social support and social negativity findings in depression: perceived responsiveness to basic psychological needs. *Clinical Psychology Review*, 31(3), 342–52. <http://doi.org/10.1016/j.cpr.2011.01.005>
- Ingram, R. E. (2009). *The International Encyclopedia of Depression*. (R. E. Ingram, Ed.) *The International Encyclopedia of Depression*. New York: Springer Publishing Company. Retrieved from <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.515.1335&rep=rep1&type=pdf>
- Ishitobi, Y., Nakayama, S., Yamaguchi, K., Kanehisa, M., Higuma, H., Maruyama, Y., ... Akiyoshi, J. (2012). Association of CRHR1 and CRHR2 with major depressive disorder



and panic disorder in a Japanese population. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 159B(4), 429–36. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.32046>

## J

Jacobs, B. L., & Azmitia, E. C. (1992). Structure and function of the brain serotonin system. *Physiological Reviews*, 72(1), 165–229. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1731370>

Jefferis, B. J., Nazareth, I., Marston, L., Moreno-Kustner, B., Bellón, J. Á., Svab, I., ... King, M. (2011). Associations between unemployment and major depressive disorder: evidence from an international, prospective study (the predict cohort). *Social Science & Medicine* (1982), 73(11), 1627–34. <http://doi.org/10.1016/j.socscimed.2011.09.029>

Jenkinson, C., & Layte, R. (1997). Development and testing of the UK SF-12 (short form health survey). *Journal of Health Services Research & Policy*, 2(1), 14–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10180648>

Jennings, K. A., Loder, M. K., Sheward, W. J., Pei, Q., Deacon, R. M. J., Benson, M. A., ... Sharp, T. (2006). Increased expression of the 5-HT transporter confers a low-anxiety phenotype linked to decreased 5-HT transmission. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(35), 8955–64. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5356-05.2006>

Jin, C., Xu, W., Yuan, J., Wang, G., & Cheng, Z. (2013). Meta-analysis of association between the -1438A/G (rs6311) polymorphism of the serotonin 2A receptor gene and major depressive disorder. *Neurological Research*, 35(1), 7–14. <http://doi.org/10.1179/1743132812Y.0000000111>

## K

Kadri, N., Agoub, M., El Gnaoui, S., Alami, K. M., Hergueta, T., & Moussaoui, D. (2005). Moroccan colloquial Arabic version of the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): qualitative and quantitative validation. *European Psychiatry: The Journal of the Association of European Psychiatrists*, 20(2), 193–5. <http://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2004.11.007>

Kahvejian, A., Quackenbush, J., & Thompson, J. F. (2008). What would you do if you could sequence everything? *Nature Biotechnology*, 26(10), 1125–33. <http://doi.org/10.1038/nbt1494>

Kalueff, A. V., & Nutt, D. J. (2007). Role of GABA in anxiety and depression. *Depression and Anxiety*, 24(7), 495–517. <http://doi.org/10.1002/da.20262>

Kaplan, H., & Sadock, B. (1999). Trastornos del estado de ánimo. In *Sinopsis de psiquiatría* (pp. 593–656). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana, S.A.

Karege, F., Perret, G., Bondolfi, G., Schwald, M., Bertschy, G., & Aubry, J.-M. (2002). Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Research*, 109(2), 143–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11927139>

## Bibliografía

- Karg, K., Burmeister, M., Shedden, K., & Sen, S. (2011). The serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress, and depression meta-analysis revisited: evidence of genetic moderation. *Archives of General Psychiatry*, *68*(5), 444–54. <http://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.189>
- Kato, M., & Serretti, A. (2010). Review and meta-analysis of antidepressant pharmacogenetic findings in major depressive disorder. *Molecular Psychiatry*, *15*(5), 473–500. <http://doi.org/10.1038/mp.2008.116>
- Kato, T. (2007). Molecular genetics of bipolar disorder and depression. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, *61*(1), 3–19. <http://doi.org/10.1111/j.1440-1819.2007.01604.x>
- Kato, T. (2015). Whole genome/exome sequencing in mood and psychotic disorders. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, *69*(2), 65–76. <http://doi.org/10.1111/pcn.12247>
- Kavanagh, D. H., Tansey, K. E., O'Donovan, M. C., & Owen, M. J. (2015). Schizophrenia genetics: emerging themes for a complex disorder. *Molecular Psychiatry*, *20*(1), 72–6. <http://doi.org/10.1038/mp.2014.148>
- Keller, M. C., Neale, M. C., & Kendler, K. S. (2007). Association of different adverse life events with distinct patterns of depressive symptoms. *The American Journal of Psychiatry*, *164*(10), 1521–9; quiz 1622. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.2007.06091564>
- Kendler, K. S., Gardner, C. O., & Prescott, C. A. (2001). Are there sex differences in the reliability of a lifetime history of major depression and its predictors? *Psychological Medicine*, *31*(4), 617–25. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11352364>
- Kendler, K. S., Gatz, M., Gardner, C. O., & Pedersen, N. L. (2006a). A Swedish national twin study of lifetime major depression. *The American Journal of Psychiatry*, *163*(1), 109–14. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.163.1.109>
- Kendler, K. S., Gatz, M., Gardner, C. O., & Pedersen, N. L. (2006b). Personality and Major Depression A Swedish Longitudinal, Population-Based Twin Study. *Arch Gen Psychiatry*, *63*, 1113–1120.
- Kendler, K. S., Karkowski, L. M., & Prescott, C. A. (1999). Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *The American Journal of Psychiatry*, *156*(6), 837–41. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10360120>
- Kendler, K. S., & Karkowski-Shuman, L. (1997). Stressful life events and genetic liability to major depression: genetic control of exposure to the environment? *Psychological Medicine*, *27*(3), 539–47. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9153675>
- Kendler, K. S., Kessler, R. C., Walters, E. E., MacLean, C., Neale, M. C., Heath, A. C., & Eaves, L. J. (1995). Stressful life events, genetic liability, and onset of an episode of major depression in women. *The American Journal of Psychiatry*, *152*(6), 833–42. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7755111>
- Kendler, K. S., Kuhn, J. W., & Prescott, C. A. (2004). Childhood sexual abuse, stressful life

- events and risk for major depression in women. *Psychological Medicine*, 34(08), 1475. <http://doi.org/10.1017/S003329170400265X>
- Kendler, K. S., Neale, M. C., Kessler, R. C., Heath, A. C., & Eaves, L. J. (1993). A test of the equal-environment assumption in twin studies of psychiatric illness. *Behavior Genetics*, 23(1), 21–27. <http://doi.org/10.1007/BF01067551>
- Kendler, K. S., Neale, M. C., Kessler, R. C., Heath, A. C., & Lindon, J. (1993). A Longitudinal Twin Study of Personality and Major Depression in Women. *Archives of General Psychiatry*, 50(11), 853. <http://doi.org/10.1001/archpsyc.1993.01820230023002>
- Kendler, K. S., & Prescott, C. A. (1999). A Population-Based Twin Study of Lifetime Major Depression in Men and Women. *Archives of General Psychiatry*, 56(1), 39. <http://doi.org/10.1001/archpsyc.56.1.39>
- Kennedy, N., & Foy, K. (2005). The impact of residual symptoms on outcome of major depression. *Current Psychiatry Reports*, 7(6), 441–446. <http://doi.org/10.1007/s11920-005-0065-9>
- Kessler, R. C. (1997). The Effects of Stressful Life Events on Depression. *Annual Review of Psychology*, 48, 191–214. <http://doi.org/10.1146/annurev.psych.48.1.191>
- Kessler, R. C. (2012). The costs of depression. *The Psychiatric Clinics of North America*, 35(1), 1–14. <http://doi.org/10.1016/j.psc.2011.11.005>
- Kessler, R. C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Koretz, D., Merikangas, K. R., ... Wang, P. S. (2003). The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 289(23), 3095–3105. <http://doi.org/10.1001/jama.289.23.3095>
- Kessler, R. C., Birnbaum, H., Bromet, E., Hwang, I., Sampson, N., & Shahly, V. (2010). Age differences in major depression: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *Psychological Medicine*, 40(2), 225–37. <http://doi.org/10.1017/S0033291709990213>
- Kessler, R. C., & Bromet, E. J. (2013). The epidemiology of depression across cultures. *Annual Review of Public Health*, 34, 119–38. <http://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031912-114409>
- Kessler, R. C., Davis, C. G., Kendler, K. S., David, C. G., & Kendler, K. S. (1997). Childhood adversity and adult psychiatric disorder in the US National Comorbidity Survey. *Psychological Medicine*, 27(5), 1101–1119. <http://doi.org/10.1017/S0033291797005588>
- Kessler, R. C., McGonagle, K. A., Swartz, M., Blazer, D. G., & Nelson, C. B. (1993). Sex and depression in the National Comorbidity Survey. I: Lifetime prevalence, chronicity and recurrence. *Journal of Affective Disorders*, 29(2-3), 85–96. [http://doi.org/10.1016/0165-0327\(93\)90026-G](http://doi.org/10.1016/0165-0327(93)90026-G)
- Kessler, R., & Essex, M. (1982). Marital status and depression: The importance of coping resources. *Social Forces*, 61(2), 484–507. <http://doi.org/10.1093/sf/61.2.484>
- Kim, S. W., Park, S. Y., & Hwang, O. (2002). Up-regulation of tryptophan hydroxylase expression and serotonin synthesis by sertraline. *Molecular Pharmacology*, 61(4), 778–85. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11901216>

## Bibliografía

- Kim-Cohen, J., Caspi, A., Taylor, A., Williams, B., Newcombe, R., Craig, I. W., & Moffitt, T. E. (2006). MAOA, maltreatment, and gene-environment interaction predicting children's mental health: new evidence and a meta-analysis. *Molecular Psychiatry*, *11*(10), 903–13. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001851>
- Kishi, T., Tsunoka, T., Ikeda, M., Kawashima, K., Okochi, T., Kitajima, T., ... Iwata, N. (2009). Serotonin 1A receptor gene and major depressive disorder: an association study and meta-analysis. *Journal of Human Genetics*, *54*(11), 629–33. <http://doi.org/10.1038/jhg.2009.84>
- Kishi, T., Yoshimura, R., Fukuo, Y., Kitajima, T., Okochi, T., Matsunaga, S., ... Iwata, N. (2011). The CLOCK Gene and Mood Disorders: A Case-Control Study and Meta-analysis. *Chronobiology International*, *28*(9), 825–833. <http://doi.org/10.3109/07420528.2011.609951>
- Kishi, T., Yoshimura, R., Fukuo, Y., Okochi, T., Matsunaga, S., Umene-Nakano, W., ... Iwata, N. (2013). The serotonin 1A receptor gene confer susceptibility to mood disorders: results from an extended meta-analysis of patients with major depression and bipolar disorder. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, *263*(2), 105–118. <http://doi.org/10.1007/s00406-012-0337-4>
- Klein, D. N., Kotov, R., & Bufferd, S. J. (2011). Personality and depression: explanatory models and review of the evidence. *Annual Review of Clinical Psychology*, *7*, 269–95. <http://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-032210-104540>
- Kohli, M. A., Lucae, S., Saemann, P. G., Schmidt, M. V., Demirkan, A., Hek, K., ... Binder, E. B. (2011). The neuronal transporter gene SLC6A15 confers risk to major depression. *Neuron*, *70*(2), 252–65. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.04.005>
- Kotov, R., Gamez, W., Schmidt, F., & Watson, D. (2010). Linking “big” personality traits to anxiety, depressive, and substance use disorders: a meta-analysis. *Psychological Bulletin*, *136*(5), 768–821. <http://doi.org/10.1037/a0020327>
- Kranzler, H. R., Feinn, R., Nelson, E. C., Covault, J., Anton, R. F., Farrer, L., & Gelernter, J. (2011). A CRHR1 Haplotype Moderates the Effect of Adverse Childhood Experiences on Lifetime Risk of Major Depressive Episode in African-American Women. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, *156*(8), 960–968. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.31243>
- Krishnadas, R., & Cavanagh, J. (2012). Depression: an inflammatory illness? *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *83*(5), 495–502. <http://doi.org/10.1136/jnnp-2011-301779>
- Krishnan, K. R. (2005). Psychiatric disease in the genomic era: rational approach. *Molecular Psychiatry*, *10*(11), 978–84. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001723>
- Krishnan, V., & Nestler, E. J. (2011). Animal models of depression: molecular perspectives. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *7*, 121–47. [http://doi.org/10.1007/7854\\_2010\\_108](http://doi.org/10.1007/7854_2010_108)
- Kuhn, R. (1958). The treatment of depressive states with G 22355 (Imipramine hydrochloride). *American Journal of Psychiatry*, *115*(5), 459–464. <http://doi.org/10.1176/ajp.115.5.459>
- Kunugi, H., Hattori, M., Kato, T., Tatsumi, M., Sakai, T., Sasaki, T., ... Nanko, S. (1997).

Serotonin transporter gene polymorphisms: ethnic difference and possible association with bipolar affective disorder. *Molecular Psychiatry*, 2(6), 457–462.

Kupfer, D. J. (1991). Long-term treatment of depression. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 52 Suppl, 28–34.

Kupfer, D. J., & Frank, E. (2001). The interaction of drug- and psychotherapy in the long-term treatment of depression. *Journal of Affective Disorders*, 62(1-2), 131–137. [http://doi.org/10.1016/S0165-0327\(00\)00357-8](http://doi.org/10.1016/S0165-0327(00)00357-8)

Kupfer, D. J., Frank, E., & Phillips, M. L. (2012). Major depressive disorder: new clinical, neurobiological, and treatment perspectives. *Lancet (London, England)*, 379(9820), 1045–55. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60602-8](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60602-8)

Kwak, S. H., Park, B. L., Kim, H., German, M. S., Go, M. J., Jung, H. S., ... Soo Park, K. (2012). Association of variations in TPH1 and HTR2B with gestational weight gain and measures of obesity. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 20(1), 233–8. <http://doi.org/10.1038/oby.2011.253>

## L

Lai, T. J., Wu, C. Y., Tsai, H. W., Lin, Y. M. J., & Sun, H. S. (2005). Polymorphism screening and haplotype analysis of the tryptophan hydroxylase gene (TPH1) and association with bipolar affective disorder in Taiwan. *BMC Medical Genetics*, 6, 14. <http://doi.org/10.1186/1471-2350-6-14>

Lanfume, L., Mongeau, R., Cohen-Salmon, C., & Hamon, M. (2008). Corticosteroid-serotonin interactions in the neurobiological mechanisms of stress-related disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(6), 1174–1184. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.04.006>

Lara, E., Garin, N., Ferrari, A. J., Tyrovolas, S., Olaya, B., Sanchez-Riera, L., ... Haro, J. M. (2014). The Spanish Burden of Disease 2010: Neurological, mental and substance use disorders. *Rev Psiquiatr Salud Ment*. <http://doi.org/10.1016/j.rpsm.2014.09.001>

Lasky-Su, J. A., Faraone, S. V., Glatt, S. J., & Tsuang, M. T. (2005). Meta-analysis of the association between two polymorphisms in the serotonin transporter gene and affective disorders. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 133B(1), 110–5. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.30104>

Lavori, P. W., Krause-Steinrauf, H., Brophy, M., Buxbaum, J., Cockroft, J., Cox, D. R., ... Sugarman, J. (2002). Principles, organization, and operation of a DNA bank for clinical trials: *Controlled Clinical Trials*, 23(3), 222–239. [http://doi.org/10.1016/S0197-2456\(02\)00193-9](http://doi.org/10.1016/S0197-2456(02)00193-9)

Lawlor, D. A., & Hopker, S. W. (2001). The effectiveness of exercise as an intervention in the management of depression: systematic review and meta-regression analysis of randomised controlled trials. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 322(7289), 763–7. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=30551&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Lee, S. H., Ripke, S., Neale, B. M., Faraone, S. V., Purcell, S. M., Perlis, R. H., ... Wray, N. R.

## Bibliografía

- (2013). Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. *Nature Genetics*, *45*(9), 984–94. <http://doi.org/10.1038/ng.2711>
- Leonard, B. E., & Myint, A. (2009). The psychoneuroimmunology of depression. *Human Psychopharmacology*, *24*(3), 165–75. <http://doi.org/10.1002/hup.1011>
- Lesch, K. P., Balling, U., Gross, J., Strauss, K., Wolozin, B. L., Murphy, D. L., & Riederer, P. (1994). Organization of the human serotonin transporter gene. *Journal of Neural Transmission. General Section*, *95*(2), 157–62. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7865169>
- Lesch, K. P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S. Z., Greenberg, B. D., Petri, S., ... Murphy, D. L. (1996). Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science (New York, N.Y.)*, *274*(5292), 1527–31. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8929413>
- Levinson, D. F. (2006). The genetics of depression: a review. *Biological Psychiatry*, *60*(2), 84–92. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.08.024>
- Levy, E. R., Powell, J. F., Buckle, V. J., Hsu, Y. P. P., Breakefield, X. O., & Craig, I. W. (1989). Localization of human monoamine oxidase-A gene to Xp11.23-11.4 by in situ hybridization: Implications for norrie disease. *Genomics*, *5*(2), 368–370. [http://doi.org/10.1016/0888-7543\(89\)90072-4](http://doi.org/10.1016/0888-7543(89)90072-4)
- Lewis, C. M., Ng, M. Y., Butler, A. W., Cohen-Woods, S., Uher, R., Pirlo, K., ... McGuffin, P. (2010). Genome-wide association study of major recurrent depression in the U.K. population. *The American Journal of Psychiatry*, *167*(8), 949–57. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.09091380>
- Lewis, S. J., Lawlor, D. A., Davey Smith, G., Araya, R., Timpson, N., Day, I. N. M., & Ebrahim, S. (2006). The thermolabile variant of MTHFR is associated with depression in the British Women's Heart and Health Study and a meta-analysis. *Molecular Psychiatry*, *11*(4), 352–60. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001790>
- Li, Z., Page, A., Martin, G., & Taylor, R. (2011). Attributable risk of psychiatric and socio-economic factors for suicide from individual-level, population-based studies: A systematic review. *Social Science and Medicine*, *72*(4), 608–616. <http://doi.org/10.1016/j.socscimed.2010.11.008>
- Licinio, J., O'Kirwan, F., Irizarry, K., Merriman, B., Thakur, S., Jepson, R., ... Wong, M.-L. (2004). Association of a corticotropin-releasing hormone receptor 1 haplotype and antidepressant treatment response in Mexican-Americans. *Molecular Psychiatry*, *9*(12), 1075–82. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001587>
- Lieb, K., Rexhausen, J. E., Kahl, K. G., Schweiger, U., Philipsen, A., Hellhammer, D. H., & Bohus, M. (2004). Increased diurnal salivary cortisol in women with borderline personality disorder. *Journal of Psychiatric Research*, *38*(6), 559–65. <http://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2004.04.002>
- Lim, L. C., Powell, J., Sham, P., Castle, D., Hunt, N., Murray, R., & Gill, M. (1995). Evidence for a genetic association between alleles of monoamine oxidase A gene and bipolar affective disorder. *American Journal of Medical Genetics*, *60*(4), 325–31. <http://doi.org/10.1002/ajmg.1320600413>
- Lindert, J., von Ehrenstein, O. S., Grashow, R., Gal, G., Braehler, E., & Weisskopf, M. G.

- (2014). Sexual and physical abuse in childhood is associated with depression and anxiety over the life course: systematic review and meta-analysis. *International Journal of Public Health*, 59(2), 359–72. <http://doi.org/10.1007/s00038-013-0519-5>
- Lingam, R., & Scott, J. (2002). Treatment non-adherence in affective disorders. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 105(3), 164–72. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11939969>
- Liu, Z., Huang, L., Luo, X.-J., Wu, L., & Li, M. (2015). MAOA Variants and Genetic Susceptibility to Major Psychiatric Disorders. *Molecular Neurobiology*. <http://doi.org/10.1007/s12035-015-9374-0>
- Liu, Z., Zhu, F., Wang, G., Xiao, Z., Tang, J., Liu, W., ... Li, W. (2007). Association study of corticotropin-releasing hormone receptor1 gene polymorphisms and antidepressant response in major depressive disorders. *Neuroscience Letters*, 414(2), 155–8. <http://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.12.013>
- Lobo, I. (2008). Multifactorial Inheritance and Genetic Disease. *Nature Education*, 1(1), 5. Retrieved from <http://www.nature.com/scitable/topicpage/multifactorial-inheritance-and-genetic-disease-919>
- Lönnqvist, J. K. (2000). Psychiatric Aspects of Suicidal Behaviour: Depression. In K. Hawton and K. van Heeringen (Ed.), *The International Handbook of Suicide and Attempted Suicide*. West Sussex, England: John Wiley & Sons, Ltd. <http://doi.org/doi:10.1002/9780470698976.ch7>
- Lönnqvist, J. K., Henriksson, M. M., Sisometsä, E. T., Marttunen, M. J., Heikkinen, M. E., Aro, H. M., & Kuoppasalmi, K. I. (1995). Mental disorders and suicide prevention. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 49(s1), S111–S116. <http://doi.org/10.1111/j.1440-1819.1995.tb01912.x>
- Loo, C. K., & Mitchell, P. B. (2005). A review of the efficacy of transcranial magnetic stimulation (TMS) treatment for depression, and current and future strategies to optimize efficacy. *Journal of Affective Disorders*, 88(3), 255–67. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2005.08.001>
- López, J. F., Chalmers, D. T., Little, K. Y., & Watson, S. J. (1998). Regulation of Serotonin1A, Glucocorticoid, and Mineralocorticoid Receptor in Rat and Human Hippocampus: Implications for the Neurobiology of Depression. *Biological Psychiatry*, 43(8), 547–573. [http://doi.org/10.1016/S0006-3223\(97\)00484-8](http://doi.org/10.1016/S0006-3223(97)00484-8)
- López-León, S., Janssens, A. C. J. W., González-Zuloeta Ladd, A. M., Del-Favero, J., Claes, S. J., Oostra, B. a, & van Duijn, C. M. (2008). Meta-analyses of genetic studies on major depressive disorder. *Molecular Psychiatry*, 13(8), 772–785. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4002088>
- Lorant, V., Croux, C., Weich, S., Deliège, D., Mackenbach, J., & Ansseau, M. (2007). Depression and socio-economic risk factors: 7-year longitudinal population study. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 190, 293–8. <http://doi.org/10.1192/bjp.bp.105.020040>
- Lorant, V., Deliège, D., Eaton, W., Robert, A., Philippot, P., & Ansseau, M. (2003). Socioeconomic inequalities in depression: a meta-analysis. *American Journal of Epidemiology*, 157(2), 98–112. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12522017>

## Bibliografía

- Lotrich, F., & Pollock, B. (2004). Meta-analysis of serotonin transporter polymorphisms and affective disorders. *Psychiatric Genetics*, *14*, 121–129. <http://doi.org/0.1097/00041444-200409000-00001>
- Lovejoy, E. A., Scott, A. C., Fiskerstrand, C. E., Bubb, V. J., & Quinn, J. P. (2003). The serotonin transporter intronic VNTR enhancer correlated with a predisposition to affective disorders has distinct regulatory elements within the domain based on the primary DNA sequence of the repeat unit. *The European Journal of Neuroscience*, *17*(2), 417–20. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12542679>
- Lung, F. W., Tzeng, D. S., Huang, M. F., & Lee, M. B. (2011). Association of the MAOA promoter uVNTR polymorphism with suicide attempts in patients with major depressive disorder. *BMC Medical Genetics*, *12*, 74. <http://doi.org/10.1186/1471-2350-12-74>
- Luppino, F. S., de Wit, L. M., Bouvy, P. F., Stijnen, T., Cuijpers, P., Penninx, B. W. J. H., & Zitman, F. G. (2010). Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Archives of General Psychiatry*, *67*(3), 220–9. <http://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.2>
- Luque, R., & Berrios, G. E. (2011). Historia de los trastornos afectivos. *Revista Colombiana de Psiquiatría*, *40*, 130S–146S. [http://doi.org/10.1016/S0034-7450\(14\)60199-2](http://doi.org/10.1016/S0034-7450(14)60199-2)
- Luscher, B., Fuchs, T., & Kilpatrick, C. L. (2011). GABAA receptor trafficking-mediated plasticity of inhibitory synapses. *Neuron*, *70*(3), 385–409. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.03.024>

## M

- Mahgoub, M., & Monteggia, L. M. (2013). Epigenetics and psychiatry. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics*, *10*(4), 734–41. <http://doi.org/10.1007/s13311-013-0213-6>
- Maier, R., Moser, G., Chen, G.-B., Ripke, S., Coryell, W., Potash, J. B., ... Lee, S. H. (2015). Joint Analysis of Psychiatric Disorders Increases Accuracy of Risk Prediction for Schizophrenia, Bipolar Disorder, and Major Depressive Disorder. *The American Journal of Human Genetics*, *96*(2), 283–94. <http://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.12.006>
- Major Depressive Disorder Working Group of the Psychiatric GWAS Consortium, Ripke, S., Wray, N. R., Lewis, C. M., Hamilton, S. P., Weissman, M. M., ... Sullivan, P. F. (2013). A mega-analysis of genome-wide association studies for major depressive disorder. *Molecular Psychiatry*, *18*(4), 497–511. <http://doi.org/10.1038/mp.2012.21>
- Mandelli, L., & Serretti, A. (2013). Gene environment interaction studies in depression and suicidal behavior: An update. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *37*(10 Pt 1), 2375–97. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.07.011>
- Manji, H. K., Drevets, W. C., & Charney, D. S. (2001). The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine*, *7*(5), 541–7. <http://doi.org/10.1038/87865>
- Mann, J. J. (1999). Role of the serotonergic system in the pathogenesis of major depression and suicidal behavior. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *21*(2 Suppl), 99S–105S. [http://doi.org/10.1016/S0893-133X\(99\)00040-8](http://doi.org/10.1016/S0893-133X(99)00040-8)



- Manolio, T. A. (2010). Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *The New England Journal of Medicine*, *363*(2), 166–76. <http://doi.org/10.1056/NEJMra0905980>
- Manuck, S. B., Flory, J. D., Ferrell, R. E., Mann, J. J., & Muldoon, M. F. (2000). A regulatory polymorphism of the monoamine oxidase-A gene may be associated with variability in aggression, impulsivity, and central nervous system serotonergic responsivity. *Psychiatry Research*, *95*(1), 9–23. [http://doi.org/10.1016/S0165-1781\(00\)00162-1](http://doi.org/10.1016/S0165-1781(00)00162-1)
- Marcus, M., Yasamy, M. T., van Ommeren, M., & Chisholm, D. (2012). Depression, a global public health concern. Retrieved from [http://www.who.int/mental\\_health/management/depression/who\\_paper\\_depression\\_wfmh\\_2012.pdf](http://www.who.int/mental_health/management/depression/who_paper_depression_wfmh_2012.pdf)
- Marian, A. J. (2012). Molecular genetic studies of complex phenotypes. *Translational Research: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, *159*(2), 64–79. <http://doi.org/10.1016/j.trsl.2011.08.001>
- Martin, J., Cleak, J., Willis-Owen, S. A. G., Flint, J., & Shifman, S. (2007). Mapping regulatory variants for the serotonin transporter gene based on allelic expression imbalance. *Molecular Psychiatry*, *12*(5), 421–2. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001952>
- Martinowich, K., Manji, H., & Lu, B. (2007). New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nature Neuroscience*, *10*(9), 1089–93. <http://doi.org/10.1038/nn1971>
- McDermott, R., Tingley, D., Cowden, J., Frazzetto, G., & Johnson, D. D. P. (2009). Monoamine oxidase A gene (MAOA) predicts behavioral aggression following provocation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(7), 2118–23. <http://doi.org/10.1073/pnas.0808376106>
- McGee, R. E., & Thompson, N. J. (2015). Unemployment and depression among emerging adults in 12 states, Behavioral Risk Factor Surveillance System, 2010. *Preventing Chronic Disease*, *12*, E38. <http://doi.org/10.5888/pcd12.140451>
- McGuffin, P., Katz, R., Aldrich, J., & Bebbington, P. (1988). The Camberwell Collaborative Depression Study. II. Investigation of family members. *The British Journal of Psychiatry*, *152*(6), 766–774. <http://doi.org/10.1192/bjp.152.6.766>
- McGuffin, P., & Rivera, M. (2015). The interaction between stress and genetic factors in the etiopathogenesis of depression. *World Psychiatry: Official Journal of the World Psychiatric Association (WPA)*, *14*(2), 161–3. <http://doi.org/10.1002/wps.20230>
- McKinnon, M. C., Yucel, K., Nazarov, A., & MacQueen, G. M. (2009). A meta-analysis examining clinical predictors of hippocampal volume in patients with major depressive disorder. *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, *34*(1), 41–54. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2612082&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Merikangas, K. R., & Swendsen, J. D. (1997). Genetic epidemiology of psychiatric disorders. *Epidemiologic Reviews*, *19*(1), 144–55. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9360911>
- Merriam, A. E., & Karasu, T. B. (1996). The Role of Psychotherapy in the Treatment of Depression. *Archives of General Psychiatry*, *53*(4), 301.

<http://doi.org/10.1001/archpsyc.1996.01830040031006>

Mirowsky, J., & Ross, C. E. (1992). Age and depression. *Journal of Health and Social Behavior*, 33(3), 187–205; discussion 206–12. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1401846>

Mirowsky, J., & Ross, C. E. (2001). Age and the effect of economic hardship on depression. *Journal of Health and Social Behavior*, 42(2), 132–150. <http://doi.org/10.2307/3090174>

Moffitt, T. E., Caspi, A., & Rutter, M. (2005). Strategy for investigating interactions between measured genes and measured environments. *Archives of General Psychiatry*, 62(5), 473–81. <http://doi.org/10.1001/archpsyc.62.5.473>

Möhler, H. (2012). The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential. *Neuropharmacology*, 62(1), 42–53. <http://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.08.040>

Molendijk, M. L., Spinhoven, P., Polak, M., Bus, B. A. A., Penninx, B. W. J. H., & Elzinga, B. M. (2014). Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484). *Molecular Psychiatry*, 19(7), 791–800. <http://doi.org/10.1038/mp.2013.105>

Monteggia, L. M., Malenka, R. C., & Deisseroth, K. (2014). Depression: The best way forward. *Nature*, 515(7526), 200–201. <http://doi.org/10.1038/515200a>

Moran, P., Leese, M., Lee, T., Walters, P., Thornicroft, G., & Mann, A. (2003). Standardised Assessment of Personality - Abbreviated Scale (SAPAS): preliminary validation of a brief screen for personality disorder. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 183, 228–32. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12948996>

Morosini, P. L., Magliano, L., Brambilla, L., Ugolini, S., & Pioli, R. (2000). Development, reliability and acceptability of a new version of the DSM-IV Social and Occupational Functioning Assessment Scale (SOFAS) to assess routine social functioning. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 101(4), 323–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10782554>

Moussavi, S., Chatterji, S., Verdes, E., Tandon, A., Patel, V., & Ustun, B. (2007). Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. *Lancet*, 370(9590), 851–8. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61415-9](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61415-9)

Muglia, P., Tozzi, F., Galwey, N. W., Francks, C., Upmanyu, R., Kong, X. Q., ... Roses, A. D. (2010). Genome-wide association study of recurrent major depressive disorder in two European case-control cohorts. *Molecular Psychiatry*, 15(6), 589–601. <http://doi.org/10.1038/mp.2008.131>

Munafò, M. R. (2006). Candidate gene studies in the 21st century: meta-analysis, mediation, moderation. *Genes, Brain, and Behavior*, 5 Suppl 1, 3–8. <http://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2006.00188.x>

Munafò, M. R., Durrant, C., Lewis, G., & Flint, J. (2009). Gene X environment interactions at the serotonin transporter locus. *Biological Psychiatry*, 65(3), 211–9. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.06.009>

Murakami, S., Imbe, H., Morikawa, Y., Kubo, C., & Senba, E. (2005). Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly. *Neuroscience Research*, 53(2), 129–39. <http://doi.org/10.1016/j.neures.2005.06.008>

## N

Nakamura, M., Ueno, S., Sano, A., & Tanabe, H. (2000). The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants. *Molecular Psychiatry*, 5(1), 32–38. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4000698>

Nanni, V., Uher, R., & Danese, A. (2012). Childhood Maltreatment Predicts Unfavorable Course of Illness and Treatment Outcome in Depression: A Meta-Analysis. *American Journal of Psychiatry*, 169(2), 141–151. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.2011.11020335>

National Collaborating Centre for Mental Health. (2010). *Depression: The Treatment and Management of Depression in Adults (Updated Edition)*. Leicester, UK: British Psychological Society. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK63763/>

Nestler, E. J., Barrot, M., DiLeone, R. J., Eisch, A. J., Gold, S. J., & Monteggia, L. M. (2002). Neurobiology of depression. *Neuron*, 34(1), 13–25. [http://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00653-0](http://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00653-0)

Nestler, E. J., & Hyman, S. E. (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature Neuroscience*, 13(10), 1161–9. <http://doi.org/10.1038/nn.2647>

Ng, S. B., Turner, E. H., Robertson, P. D., Flygare, S. D., Bigham, A. W., Lee, C., ... Shendure, J. (2009). Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature*, 461(7261), 272–6. <http://doi.org/10.1038/nature08250>

Nichols, D. E., & Nichols, C. D. (2008). Serotonin receptors. *Chemical Reviews*, 108(5), 1614–41. <http://doi.org/10.1021/cr078224o>

Nilsson, K. W., Comasco, E., Hodgins, S., Orelund, L., & Åslund, C. (2015). Genotypes do not confer risk for delinquency but rather alter susceptibility to positive and negative environmental factors: gene-environment interactions of BDNF Val66Met, 5-HTTLPR, and MAOA-uVNTR [corrected]. *The International Journal of Neuropsychopharmacology / Official Scientific Journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, 18(5). <http://doi.org/10.1093/ijnp/pyu107>

NIMH Genetic Initiative. (2005). Family Interview for Genetic Studies (FIGS). Rockville: National Institute of Mental Health. Retrieved from <https://www.nimhgenetics.org/interviews/figs/FIGS.pdf>

Noble, W. S. (2009). How does multiple testing correction work? *Nature Biotechnology*, 27(12), 1135–7. <http://doi.org/10.1038/nbt1209-1135>

Nolen-Hoeksema, S. (2001). Gender Differences in Depression. *Current Directions in Psychological Science*, 10(5), 173–176. <http://doi.org/10.1111/1467-8721.00142>

North, T. C., McCullagh, P., & Tran, Z. V. (1990). Effect of exercise on depression. *Exercise & Sport Sciences Reviews*, 18(1), 379–416. Retrieved from

## Bibliografía

[http://journals.lww.com/acsm-essr/Citation/1990/01000/Effect\\_of\\_Exercise\\_on\\_Depression.16.aspx](http://journals.lww.com/acsm-essr/Citation/1990/01000/Effect_of_Exercise_on_Depression.16.aspx)

- Norton, N., & Owen, M. J. (2005). HTR2A: association and expression studies in neuropsychiatric genetics. *Annals of Medicine*, 37(2), 121–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16026119>
- Nugent, N. R., Tyrka, A. R., Carpenter, L. L., & Price, L. H. (2011). Gene-environment interactions: early life stress and risk for depressive and anxiety disorders. *Psychopharmacology*, 214(1), 175–96. <http://doi.org/10.1007/s00213-010-2151-x>
- Nutt, D. J. (2002). The neuropharmacology of serotonin and noradrenaline in depression. *International Clinical Psychopharmacology*, 17 Suppl 1, S1–12. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12369606>
- Nyholt, D. R. (2004). Report A Simple Correction for Multiple Testing for Single-Nucleotide Polymorphisms in Linkage Disequilibrium with Each Other. *Am. J. Hum. Genet*, 74, 765–769.
- Nyberg, C., Jia, T., Lubbe, S., Ruggeri, B., Desrivieres, S., Barker, G., ... Schumann, G. (2013). Neural mechanisms of attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms are stratified by MAOA genotype. *Biological Psychiatry*, 74(8), 607–14. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.03.027>

## O

- O'Reardon, J. P., Solvason, H. B., Janicak, P. G., Sampson, S., Isenberg, K. E., Nahas, Z., ... Sackeim, H. A. (2007). Efficacy and safety of transcranial magnetic stimulation in the acute treatment of major depression: a multisite randomized controlled trial. *Biological Psychiatry*, 62(11), 1208–16. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.01.018>
- Ocaña-Riola, R., & Sánchez-Cantalejo, C. (2005). Rurality index for small areas in Spain. *Social Indicators Research*, 73(2), 247–266. <http://doi.org/10.1007/s11205-004-0987-3>
- 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 (London, England)*, 347(9003), 731–3. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8602004>
- Omrani, A., Holtzman, N. S., Akiskal, H. S., & Ghaemi, S. N. (2012). Ibn Imran's 10th century Treatise on Melancholy. *Journal of Affective Disorders*, 141(2-3), 116–9. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2012.02.004>
- Opel, N., Redlich, R., Grotegerd, D., Dohm, K., Heindel, W., Kugel, H., ... Dannlowski, U. (2015). Obesity and major depression: Body-mass index (BMI) is associated with a severe course of disease and specific neurostructural alterations. *Psychoneuroendocrinology*, 51, 219–226. <http://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.10.001>
- Ormel, J., Bastiaansen, A., Riese, H., Bos, E. H., Servaas, M., Ellenbogen, M., ... Aleman, A. (2013). The biological and psychological basis of neuroticism: current status and future directions. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(1), 59–72.

<http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.09.004>

Ormel, J., Jeronimus, B. F., Kotov, R., Riese, H., Bos, E. H., Hankin, B., ... Oldehinkel, A. J. (2013). Neuroticism and common mental disorders: meaning and utility of a complex relationship. *Clinical Psychology Review*, 33(5), 686–97. <http://doi.org/10.1016/j.cpr.2013.04.003>

Otsubo, T., Tanaka, K., Koda, R., Shinoda, J., Sano, N., Tanaka, S., ... Kamijima, K. (2005). Reliability and validity of Japanese version of the Mini-International Neuropsychiatric Interview. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 59(5), 517–26. <http://doi.org/10.1111/j.1440-1819.2005.01408.x>

Overstreet, D. H. (2012). Modeling depression in animal models. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 829, 125–44. [http://doi.org/10.1007/978-1-61779-458-2\\_7](http://doi.org/10.1007/978-1-61779-458-2_7)

Owens, M. J., & Nemeroff, C. B. (1994). Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clinical Chemistry*, 40(2), 288–95. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7508830>

## P

Palazidou, E. (2012). The neurobiology of depression. *British Medical Bulletin*, 101, 127–45. <http://doi.org/10.1093/bmb/lds004>

Pariante, C. M., & Lightman, S. L. (2008). The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends in Neurosciences*, 31(9), 464–8. <http://doi.org/10.1016/j.tins.2008.06.006>

Parker, G. (2005). Beyond major depression. *Psychological Medicine*, 35(4), 467–474. <http://doi.org/10.1017/S0033291704004210>

Parker, G., & Brotchie, H. (2010). Gender differences in depression. *International Review of Psychiatry (Abingdon, England)*, 22(5), 429–436. <http://doi.org/10.3109/09540261.2010.492391>

Parsey, R. V., Hastings, R. S., Oquendo, M. A., Hu, X., Goldman, D., Huang, Y., ... Mann, J. J. (2006). Effect of a triallelic functional polymorphism of the serotonin-transporter-linked promoter region on expression of serotonin transporter in the human brain. *The American Journal of Psychiatry*, 163(1), 48–51. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.163.1.48>

Pascual-Leone, A., Rubio, B., Pallardó, F., & Catalá, M. D. (1996). Rapid-rate transcranial magnetic stimulation of left dorsolateral prefrontal cortex in drug-resistant depression. *Lancet (London, England)*, 348(9022), 233–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8684201>

Patel, A. (2013). Review: the role of inflammation in depression. *Psychiatria Danubina*, 25 Suppl 2, S216–23. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23995180>

Patel, M. J., Khalaf, A., & Aizenstein, H. J. (2015). Studying depression using imaging and machine learning methods. *NeuroImage: Clinical*, 10, 115–123. <http://doi.org/10.1016/j.nicl.2015.11.003>

Patnala, R., Clements, J., & Batra, J. (2013). Candidate gene association studies: a

## Bibliografía

- comprehensive guide to useful in silico tools. *BMC Genetics*, 14, 39. <http://doi.org/10.1186/1471-2156-14-39>
- Paul, K. I., & Moser, K. (2009). Unemployment impairs mental health: Meta-analyses. *Journal of Vocational Behavior*, 74(3), 264–282. <http://doi.org/10.1016/j.jvb.2009.01.001>
- Paykel, E. S. (1995). Psychotherapy, medication combinations, and compliance. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 56 Suppl 1, 24–30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7836348>
- Paykel, E. S. (2008). Basic concepts of depression. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 10(3), 279–289.
- Peerbooms, O. L. J., van Os, J., Drukker, M., Kenis, G., Hoogveld, L., de Hert, M., ... Rutten, B. P. F. (2011). Meta-analysis of MTHFR gene variants in schizophrenia, bipolar disorder and unipolar depressive disorder: evidence for a common genetic vulnerability? *Brain, Behavior, and Immunity*, 25(8), 1530–43. <http://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.12.006>
- Pehrson, A. L., & Sanchez, C. (2015). Altered  $\gamma$ -aminobutyric acid neurotransmission in major depressive disorder: a critical review of the supporting evidence and the influence of serotonergic antidepressants. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 603–24. <http://doi.org/10.2147/DDDT.S62912>
- Penkalla, A. M., & Kohler, S. (2014). Urbanicity and Mental Health in Europe: A Systematic Review. *European Journal of Mental Health*, 9(2), 163–177. <http://doi.org/10.5708/EJMh.9.2014.2.2>
- Pezawas, L., Meyer-Lindenberg, A., Drabant, E. M., Verchinski, B. A., Munoz, K. E., Kolachana, B. S., ... Weinberger, D. R. (2005). 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: a genetic susceptibility mechanism for depression. *Nature Neuroscience*, 8(6), 828–34. <http://doi.org/10.1038/nn1463>
- Piccinelli, M., & Wilkinson, G. (2000). Gender differences in depression. Critical review. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 177, 486–92. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11102321>
- Pilhatsch, M., Marxen, M., Winter, C., Smolka, M. N., & Bauer, M. (2011). Hypothyroidism and mood disorders: integrating novel insights from brain imaging techniques. *Thyroid Research*, 4 Suppl 1, S3. <http://doi.org/10.1186/1756-6614-4-S1-S3>
- Pino, O., Guilera, G., Gómez, J., Rojo, J. E., Vellejo, J., & Purdon, S. E. (2006). [A brief scale to assess cognitive impairment in psychiatric patients]. *Psicothema*, 18(3), 447–52. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17296070>
- Placidi, G. P., Oquendo, M. A., Malone, K. M., Huang, Y. Y., Ellis, S. P., & Mann, J. J. (2001). Aggressivity, suicide attempts, and depression: relationship to cerebrospinal fluid monoamine metabolite levels. *Biological Psychiatry*, 50(10), 783–91. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11720697>
- Plotsky, P. M., Owens, M. J., & Nemeroff, C. B. (1998). Psychoneuroendocrinology of depression. *Psychiatric Clinics of North America*, 21(2), 293–307. [http://doi.org/10.1016/S0193-953X\(05\)70006-X](http://doi.org/10.1016/S0193-953X(05)70006-X)

- Polanczyk, G., Caspi, A., Williams, B., Price, T. S., Danese, A., Sugden, K., ... Moffitt, T. E. (2009). Protective effect of CRHR1 gene variants on the development of adult depression following childhood maltreatment: replication and extension. *Archives of General Psychiatry*, *66*(9), 978–85. <http://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2009.114>
- Porter, R. J., Gallagher, P., Watson, S., & Young, A. H. (2004). Corticosteroid-serotonin interactions in depression: a review of the human evidence. *Psychopharmacology*, *173*(1-2), 1–17. <http://doi.org/10.1007/s00213-004-1774-1>
- Post, R. M. (2007). Role of BDNF in bipolar and unipolar disorder: clinical and theoretical implications. *Journal of Psychiatric Research*, *41*(12), 979–90. <http://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.09.009>
- Posternak, M. A., Solomon, D. A., Leon, A. C., Mueller, T. I., Shea, M. T., Endicott, J., & Keller, M. B. (2006). The Naturalistic Course of Unipolar Major Depression in the Absence of Somatic Therapy. *The Journal of Nervous and Mental Disease*, *194*(5), 324–329. <http://doi.org/10.1097/01.nmd.0000217820.33841.53>
- Posternak, M., & Miller, I. (2001). Untreated short-term course of major depression: A meta-analysis of outcomes from studies using wait-list control groups. *Journal of Affective Disorders*, *66*(2-3), 139–146. [http://doi.org/10.1016/S0165-0327\(00\)00304-9](http://doi.org/10.1016/S0165-0327(00)00304-9)
- Priebe, S., Watzke, S., Hansson, L., & Burns, T. (2008). Objective social outcomes index (SIX): a method to summarise objective indicators of social outcomes in mental health care. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *118*(1), 57–63. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2008.01217.x>
- Prince, M., Patel, V., Saxena, S., Maj, M., Maselko, J., Phillips, M. R., & Rahman, A. (2007). No health without mental health. *Lancet*, *370*(9590), 859–77. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61238-0](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61238-0)
- Pruunsild, P., Kazantseva, A., Aid, T., Palm, K., & Timmusk, T. (2007). Dissecting the human BDNF locus: bidirectional transcription, complex splicing, and multiple promoters. *Genomics*, *90*(3), 397–406. <http://doi.org/10.1016/j.ygeno.2007.05.004>
- Psychiatric GWAS Consortium Steering Committee. (2009). A framework for interpreting genome-wide association studies of psychiatric disorders. *Molecular Psychiatry*, *14*(1), 10–7. <http://doi.org/10.1038/mp.2008.126>
- Puig, M. V., & Gullledge, A. T. (2011). Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. *Molecular Neurobiology*, *44*(3), 449–64. <http://doi.org/10.1007/s12035-011-8214-0>
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A. R., Bender, D., ... Sham, P. C. (2007). REPORT PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *The American Journal of Human Genetics* *Am. J. Hum. Genet.*, *81*81, 559–575. <http://doi.org/10.1086/519795>
- Purdon, S. E. (2005). The Screen for Cognitive Impairment in Psychiatry (SCIP): Instructions and three alternate forms. Edmonton: PNL Inc.

R

- Ralston, A. (2008). Gene Interaction and Disease. *Nature Education*, 1(1), 16. Retrieved from <http://www.nature.com/scitable/topicpage/gene-interaction-and-disease-987>
- Ramamoorthy, S., Bauman, A. L., Moore, K. R., Han, H., Yang-Feng, T., Chang, A. S., ... Blakely, R. D. (1993). Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. National Academy of Sciences. Retrieved from [/pmc/articles/PMC46124/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC46124/?report=abstract)
- Real Academia Española. (2014). Diccionario de la Lengua Española. Retrieved from <http://lema.rae.es/drae/?val=practica>
- Reif, A., Weber, H., Domschke, K., Klauke, B., Baumann, C., Jacob, C. P., ... Deckert, J. (2012). Meta-analysis argues for a female-specific role of MAOA-uVNTR in panic disorder in four European populations. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 159B(7), 786–93. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.32085>
- Remick, R. A. (2002). Diagnosis and management of depression in primary care: a clinical update and review. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal = Journal de l'Association Médicale Canadienne*, 167(11), 1253–60. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=134138&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Ressler, K. J., & Nemeroff, C. B. (2000). Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders. *Depression and Anxiety*, 12 Suppl 1, 2–19. [http://doi.org/10.1002/1520-6394\(2000\)12:1+<2::AID-DA2>3.0.CO;2-4](http://doi.org/10.1002/1520-6394(2000)12:1+<2::AID-DA2>3.0.CO;2-4)
- Rietschel, M., Mattheisen, M., Degenhardt, F., Mühleisen, T. W., Kirsch, P., Esslinger, C., ... Cichon, S. (2012). Association between genetic variation in a region on chromosome 11 and schizophrenia in large samples from Europe. *Molecular Psychiatry*, 17(9), 906–17. <http://doi.org/10.1038/mp.2011.80>
- Rietschel, M., Mattheisen, M., Frank, J., Treutlein, J., Degenhardt, F., Breuer, R., ... Cichon, S. (2010). Genome-wide association-, replication-, and neuroimaging study implicates HOMER1 in the etiology of major depression. *Biological Psychiatry*, 68(6), 578–85. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.05.038>
- Risch, N., Herrell, R., Lehner, T., Liang, K.-Y., Eaves, L., Hoh, J., ... Merikangas, K. R. (2009). Interaction between the serotonin transporter gene (5-HTTLPR), stressful life events, and risk of depression: a meta-analysis. *JAMA*, 301(23), 2462–71. <http://doi.org/10.1001/jama.2009.878>
- Risch, N., & Merikangas, K. (1996). The Future of Genetic Studies of Complex Human Diseases. *Source: Science, New Series*, 273(13), 1516–1517. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/2891043>
- Rivera, M. (2008). *Interacciones genético-ambientales y riesgo de depresión*. University of Granada.
- Rivera, M., Gutiérrez, B., Molina, E., Torres-González, F., Bellón, J. A., Moreno-Küstner, B., ...



- Cervilla, J. A. (2009). High-activity variants of the uMAOA polymorphism increase the risk for depression in a large primary care sample. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, *150B*(3), 395–402. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.30829>
- Rivera, M., & McGuffin, P. (2015). The successful search for genetic loci associated with depression. *Genome Medicine*, *7*(1), 92. <http://doi.org/10.1186/s13073-015-0217-4>
- Rogers, J., Raveendran, M., Fawcett, G. L., Fox, A. S., Shelton, S. E., Oler, J. A., ... Kalin, N. H. (2013). CRHR1 genotypes, neural circuits and the diathesis for anxiety and depression. *Molecular Psychiatry*, *18*(6), 700–7. <http://doi.org/10.1038/mp.2012.152>
- Ross, C. E., & Mirowsky, J. (2006). Sex differences in the effect of education on depression: resource multiplication or resource substitution? *Social Science & Medicine* (1982), *63*(5), 1400–13. <http://doi.org/10.1016/j.socscimed.2006.03.013>
- Ross, C. E., & Mirowsky, J. (2011). The interaction of personal and parental education on health. *Social Science & Medicine* (1982), *72*(4), 591–9. <http://doi.org/10.1016/j.socscimed.2010.11.028>
- Rossi, A., Alberio, R., Porta, A., Sandri, M., Tansella, M., & Amaddeo, F. (2004). The reliability of the Mini-International Neuropsychiatric Interview--Italian version. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, *24*(5), 561–3. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15349020>
- Rowling, J. K. (2000). J.K. Rowling, the interview. *The Times (UK)*.
- Rubinsztein, D. C., Leggo, J., Goodburn, S., Walsh, C., Jain, S., & Paykel, E. S. (1996). Genetic association between monoamine oxidase A microsatellite and RFLP alleles and bipolar affective disorder: analysis and meta-analysis. *Human Molecular Genetics*, *5*(6), 779–82. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8776592>
- Rucker, J. J. H., Breen, G., Pinto, D., Pedroso, I., Lewis, C. M., Cohen-Woods, S., ... McGuffin, P. (2013). Genome-wide association analysis of copy number variation in recurrent depressive disorder. *Molecular Psychiatry*, *18*(2), 183–9. <http://doi.org/10.1038/mp.2011.144>
- Rudorfer, M. V., & Potter, W. Z. (1999). Metabolism of tricyclic antidepressants. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *19*(3), 373–409. <http://doi.org/10.1023/A:1006949816036>
- Ruhé, H. G., Mason, N. S., & Schene, A. H. (2007). Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Molecular Psychiatry*, *12*(4), 331–59. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001949>
- Rybakowski, J. K. (2008). BDNF gene: functional Val66Met polymorphism in mood disorders and schizophrenia. *Pharmacogenomics*, *9*(11), 1589–93. <http://doi.org/10.2217/14622416.9.11.1589>

## S

- Sabol, S. Z., Hu, S., & Hamer, D. (1998). A functional polymorphism in the monoamine

## Bibliografía

- oxidase A gene promoter. *Human Genetics*, 103(3), 273–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9799080>
- Sackeim, H. A., Prudic, J., Fuller, R., Keilp, J., Lavori, P. W., & Olfson, M. (2007). The cognitive effects of electroconvulsive therapy in community settings. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 32(1), 244–54. <http://doi.org/10.1038/sj.npp.1301180>
- Sanders, A. R., Duan, J., Levinson, D. F., Shi, J., He, D., Hou, C., ... Gejman, P. V. (2008). No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics. *The American Journal of Psychiatry*, 165(4), 497–506. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.2007.07101573>
- Sanjuán, J. (2011). Teorías evolucionistas. In C. Leal & J. Vallejo (Eds.), *Tratado de Psiquiatría* (2ª ed., pp. 383–404). Madrid, España: STM Editores.
- Sapolsky, R. M., Uno, H., Rebert, C. S., & Finch, C. E. (1990). Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 10(9), 2897–902. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2398367>
- Sartorius, N. (2001). The economic and social burden of depression. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 62 Suppl 1, 8–11.
- Sartorius, N. (2007). Stigma and mental health. *The Lancet*, 370(9590), 810–811. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61245-8](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61245-8)
- Sasaki, T., Hattori, M., Sakai, T., Kato, T., Kunugi, H., Hirose, T., & Nanko, S. (1998). The monoamine oxidase-A gene and major psychosis in Japanese subjects. *Biological Psychiatry*, 44(9), 922–4. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9807650>
- Sato, J. R., Moll, J., Green, S., Deakin, J. F. W., Thomaz, C. E., & Zahn, R. (2015). Machine learning algorithm accurately detects fMRI signature of vulnerability to major depression. *Psychiatry Research*, 233(2), 289–91. <http://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.07.001>
- Saveanu, R. V., & Nemeroff, C. B. (2012). Etiology of depression: genetic and environmental factors. *The Psychiatric Clinics of North America*, 35(1), 51–71. <http://doi.org/10.1016/j.psc.2011.12.001>
- Schaan, B. (2014). The interaction of family background and personal education on depressive symptoms in later life. *Social Science & Medicine (1982)*, 102, 94–102. <http://doi.org/10.1016/j.socscimed.2013.11.049>
- Scharinger, C., Rabl, U., Sitte, H. H., & Pezawas, L. (2010). Imaging genetics of mood disorders. *NeuroImage*, 53(3), 810–21. <http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.02.019>
- Schatzberg, A. F., Keller, J., Tennakoon, L., Lembke, A., Williams, G., Kraemer, F. B., ... Murphy, G. M. (2014). HPA axis genetic variation, cortisol and psychosis in major depression. *Molecular Psychiatry*, 19(2), 220–7. <http://doi.org/10.1038/mp.2013.129>
- Schildkraut, J. J. (1974). Catecholamine metabolism and affective disorders: Studies of

- MHPG excretion. *Biochemical Pharmacology*, 23, 977–983. [http://doi.org/10.1016/0006-2952\(74\)90172-5](http://doi.org/10.1016/0006-2952(74)90172-5)
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature*, 511(7510), 421–427. <http://doi.org/10.1038/nature13595>
- Schomerus, G., Matschinger, H., & Angermeyer, M. C. (2009). The stigma of psychiatric treatment and help-seeking intentions for depression. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 259(5), 298–306. <http://doi.org/10.1007/s00406-009-0870-y>
- Schroeder, M., Krebs, M. O., Bleich, S., & Frieling, H. (2010). Epigenetics and depression: current challenges and new therapeutic options. *Current Opinion in Psychiatry*, 23(6), 588–92. <http://doi.org/10.1097/YCO.0b013e32833d16c1>
- Schulze, T. G., Müller, D. J., Krauss, H., Scherk, H., Ohlraun, S., Syagailo, Y. V., ... Rietschel, M. (2000). Association between a functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter and major depressive disorder. *American Journal of Medical Genetics*, 96(6), 801–3. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11121185>
- Schumacher, J., Jamra, R. A., Becker, T., Ohlraun, S., Klopp, N., Binder, E. B., ... Cichon, S. (2005). Evidence for a relationship between genetic variants at the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) locus and major depression. *Biological Psychiatry*, 58(4), 307–14. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.04.006>
- Scott, A. I. F. (2010). Electroconvulsive therapy, practice and evidence. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 196(3), 171–2. <http://doi.org/10.1192/bjp.bp.109.074054>
- Scott, K. M., Von Korff, M., Angermeyer, M. C., Benjet, C., Bruffaerts, R., de Girolamo, G., ... Kessler, R. C. (2011). Association of childhood adversities and early-onset mental disorders with adult-onset chronic physical conditions. *Archives of General Psychiatry*, 68(8), 838–44. <http://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.77>
- Sen, S., Duman, R., & Sanacora, G. (2008). Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biological Psychiatry*, 64(6), 527–32. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.05.005>
- Serretti, A., & Artioli, P. (2004). From molecular biology to pharmacogenetics: a review of the literature on antidepressant treatment and suggestions of possible candidate genes. *Psychopharmacology*, 174(4). <http://doi.org/10.1007/s00213-004-1822-x>
- Serretti, A., Kato, M., De Ronchi, D., & Kinoshita, T. (2007). Meta-analysis of serotonin transporter gene promoter polymorphism (5-HTTLPR) association with selective serotonin reuptake inhibitor efficacy in depressed patients. *Molecular Psychiatry*, 12(3), 247–257. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4001926>
- Serretti, A., Olgiati, P., Bajo, E., Bigelli, M., & Ronchi, D. De. (2011). A model to incorporate genetic testing (5-HTTLPR) in pharmacological treatment of major depressive disorders. *The World Journal of Biological Psychiatry*. Retrieved from <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/15622975.2011.572998?journalCode=iwbp20#.VjdIdSuJ1dw>
- Shapero, B. G., Black, S. K., Liu, R. T., Klugman, J., Bender, R. E., Abramson, L. Y., & Alloy, L. B.

- (2014). Stressful life events and depression symptoms: the effect of childhood emotional abuse on stress reactivity. *Journal of Clinical Psychology*, 70(3), 209–23. <http://doi.org/10.1002/jclp.22011>
- Sheehan, D. V., Lecrubier, Y., Sheehan, K. H., Amorim, P., Janavs, J., Weiller, E., ... Dunbar, G. C. (1998). The Mini-International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.): The development and validation of a structured diagnostic psychiatric interview for DSM-IV and ICD-10. *Journal of Clinical Psychiatry*. [http://doi.org/10.1016/S0924-9338\(99\)80239-9](http://doi.org/10.1016/S0924-9338(99)80239-9)
- Shi, J., Badner, J. A., Hattori, E., Potash, J. B., Willour, V. L., McMahon, F. J., ... Liu, C. (2008). Neurotransmission and bipolar disorder: a systematic family-based association study. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 147B(7), 1270–7. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.30769>
- Shi, J., Potash, J. B., Knowles, J. A., Weissman, M. M., Coryell, W., Scheftner, W. A., ... Levinson, D. F. (2011). Genome-wide association study of recurrent early-onset major depressive disorder. *Molecular Psychiatry*, 16(2), 193–201. <http://doi.org/10.1038/mp.2009.124>
- Shifman, S., Bhomra, A., Smiley, S., Wray, N. R., James, M. R., Martin, N. G., ... Flint, J. (2008). A whole genome association study of neuroticism using DNA pooling. *Molecular Psychiatry*, 13(3), 302–312. <http://doi.org/10.1038/sj.mp.4002048>
- Shih, J. C., & Chen, K. (2004). Regulation of MAO-A and MAO-B Gene Expression. *Current Medicinal Chemistry*, 11(15), 1995–2005. <http://doi.org/10.2174/0929867043364757>
- Shih, R. A., Belmonte, P. L., & Zandi, P. P. (2004). A review of the evidence from family, twin and adoption studies for a genetic contribution to adult psychiatric disorders. *International Review of Psychiatry (Abingdon, England)*, 16(4), 260–83. <http://doi.org/10.1080/09540260400014401>
- Shimizu, E., Hashimoto, K., Okamura, N., Koike, K., Komatsu, N., Kumakiri, C., ... Iyo, M. (2003). Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biological Psychiatry*, 54(1), 70–5. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12842310>
- Shyn, S. I., Shi, J., Kraft, J. B., Potash, J. B., Knowles, J. A., Weissman, M. M., ... Hamilton, S. P. (2011). Novel loci for major depression identified by genome-wide association study of Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression and meta-analysis of three studies. *Molecular Psychiatry*, 16(2), 202–15. <http://doi.org/10.1038/mp.2009.125>
- Simmons, D. (2008). Epigenetic Influences and Disease. *Nature Education*, 1(1), 6. Retrieved from <http://www.nature.com/scitable/topicpage/epigenetic-influences-and-disease-895>
- Sjöberg, R. L., Nilsson, K. W., Nordquist, N., Ohrvik, J., Leppert, J., Lindström, L., & Oreland, L. (2006). Development of depression: sex and the interaction between environment and a promoter polymorphism of the serotonin transporter gene. *The International Journal of Neuropsychopharmacology / Official Scientific Journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, 9(4), 443–9.

<http://doi.org/10.1017/S1461145705005936>

- Sloan, D. M. E., & Kornstein, S. G. (2003). Gender differences in depression and response to antidepressant treatment. *The Psychiatric Clinics of North America*, 26(3), 581–94. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14563099>
- Smith, K. (2014). Mental health: a world of depression. *Nature*, 515(7526), 181. <http://doi.org/10.1038/515180a>
- Sobocki, P., Jönsson, B., Angst, J., & Rehnberg, C. (2006). Cost of depression in Europe. *Journal of Mental Health Policy and Economics*, 9(2), 87–98.
- Sonino, N., & Fava, G. A. (1998). Psychological aspects of endocrine disease. *Clinical Endocrinology*, 49(1), 1–7. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2265.1998.00528.x>
- Stein, D. J., Daniels, W. M. U., Savitz, J., & Harvey, B. H. (2008). Brain-derived neurotrophic factor: the neurotrophin hypothesis of psychopathology. *CNS Spectrums*, 13(11), 945–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19037180>
- Stockmeier, C. A. (2003). Involvement of serotonin in depression: evidence from postmortem and imaging studies of serotonin receptors and the serotonin transporter. *Journal of Psychiatric Research*, 37(5), 357–73. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12849929>
- Stoltenberg, S. F., & Burmeister, M. (2000). Recent progress in psychiatric genetics—some hope but no hype. *Human Molecular Genetics*, 9(6), 927–35. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10767316>
- Suliman, S., Mkabile, S. G., Fincham, D. S., Ahmed, R., Stein, D. J., & Seedat, S. (2009). Cumulative effect of multiple trauma on symptoms of posttraumatic stress disorder, anxiety, and depression in adolescents. *Comprehensive Psychiatry*, 50(2), 121–7. <http://doi.org/10.1016/j.comppsy.2008.06.006>
- Sullivan, P. F. (2010). The Psychiatric GWAS Consortium: Big Science Comes to Psychiatry. *Neuron*, 68(2), 182–186. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.10.003>
- Sullivan, P. F., Daly, M. J., & O'Donovan, M. C. (2012). Genetic architectures of psychiatric disorders: the emerging picture and its implications. *Nature Publishing Group*, 13(8), 537–551. <http://doi.org/10.1038/nrg3240>
- Sullivan, P. F., de Geus, E. J. C., Willemsen, G., James, M. R., Smit, J. H., Zandbelt, T., ... Penninx, B. W. J. H. (2009). Genome-wide association for major depressive disorder: a possible role for the presynaptic protein piccolo. *Molecular Psychiatry*, 14(4), 359–75. <http://doi.org/10.1038/mp.2008.125>
- Sullivan, P. P. F., Neale, M. C. M., & Kendler, K. S. K. (2000). Genetic Epidemiology of Major Depression: Review and Meta-Analysis. *American Journal of Psychiatry*, 157(10), 1552–1562. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.10.1552>
- Sun, H., Kennedy, P. J., & Nestler, E. J. (2013). Epigenetics of the depressed brain: role of histone acetylation and methylation. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38(1), 124–37. <http://doi.org/10.1038/npp.2012.73>

## T

- Tadic, A., Rujescu, D., Szegedi, A., Giegling, I., Singer, P., Möller, H. J., & Dahmen, N. (2003). Association of a MAOA gene variant with generalized anxiety disorder, but not with panic disorder or major depression. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 117B(1), 1–6. <http://doi.org/10.1002/ajmg.b.10013>
- Tassone, F., Qi, L., Zhang, W., Hansen, R. L., Pessah, I. N., & Hertz-Picciotto, I. (2011). MAOA, DBH, and SLC6A4 variants in CHARGE: a case-control study of autism spectrum disorders. *Autism Research: Official Journal of the International Society for Autism Research*, 4(4), 250–61. <http://doi.org/10.1002/aur.196>
- The Psychiatric GWAS Consortium, Cichon, S., Craddock, N., Daly, M., Faraone, S. V., Gejman, P. V., ... Sullivan, P. F. (2009). Genomewide association studies: history, rationale, and prospects for psychiatric disorders. *The American Journal of Psychiatry*, 166(5), 540–56. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.2008.08091354>
- The UK ECT Review Group. (2003). Efficacy and safety of electroconvulsive therapy in depressive disorders: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 361(9360), 799–808. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12705-5](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12705-5)
- Thomas, D. (2010). Gene-environment-wide association studies: emerging approaches. *Nature Reviews. Genetics*, 11(4), 259–72. <http://doi.org/10.1038/nrg2764>
- Tsuang, M. T., & Faraone, S. V. (1990). *The genetics of mood disorders. The Johns Hopkins series in contemporary medicine and public health*. Baltimore, MD, US: Johns Hopkins University Press.

## U

- Uher, R. (2014). Gene-environment interactions in common mental disorders: an update and strategy for a genome-wide search. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 49(1), 3–14. <http://doi.org/10.1007/s00127-013-0801-0>
- Uher, R., & McGuffin, P. (2010). The moderation by the serotonin transporter gene of environmental adversity in the etiology of depression: 2009 update. *Molecular Psychiatry*, 15(1), 18–22. <http://doi.org/10.1038/mp.2009.123>

## V

- van der Sluis, S., Posthuma, D., Nivard, M. G., Verhage, M., & Dolan, C. V. (2013). Power in GWAS: lifting the curse of the clinical cut-off. *Molecular Psychiatry*, 18(1), 2–3. <http://doi.org/10.1038/mp.2012.65>
- van Dongen, J., Slagboom, P. E., Draisma, H. H. M., Martin, N. G., & Boomsma, D. I. (2012). The continuing value of twin studies in the omics era. *Nature Reviews. Genetics*, 13(9), 640–53. <http://doi.org/10.1038/nrg3243>
- van Ijzendoorn, M. H., Belsky, J., & Bakermans-Kranenburg, M. J. (2012). Serotonin transporter genotype 5HTTLPR as a marker of differential susceptibility? A meta-analysis of child and adolescent gene-by-environment studies. *Translational Psychiatry*, 2, e147. <http://doi.org/10.1038/tp.2012.73>

- Van Limbergen, J., Wilson, D. C., & Satsangi, J. (2009). The genetics of Crohn's disease. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, *10*, 89–116. <http://doi.org/10.1146/annurev-genom-082908-150013>
- Van Os, J. (2001). Neuroticism, life events and mental health: evidence for person--environment correlation. *The British Journal of Psychiatry*, *178*(40), 72s–77. <http://doi.org/10.1192/bjp.178.40.s72>
- Verhagen, M., van der Meij, A., van Deurzen, P. A. M., Janzing, J. G. E., Arias-Vásquez, A., Buitelaar, J. K., & Franke, B. (2010). Meta-analysis of the BDNF Val66Met polymorphism in major depressive disorder: effects of gender and ethnicity. *Molecular Psychiatry*, *15*(3), 260–71. <http://doi.org/10.1038/mp.2008.109>
- Verma, D., Chakraborti, B., Karmakar, A., Bandyopadhyay, T., Singh, A. S., Sinha, S., ... Rajamma, U. (2014). Sexual dimorphic effect in the genetic association of monoamine oxidase A (MAOA) markers with autism spectrum disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *50*, 11–20. <http://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.11.010>
- Vinberg, M., Trajkovska, V., Bennike, B., Knorr, U., Knudsen, G. M., & Kessing, L. V. (2009). The BDNF Val66Met polymorphism: relation to familiar risk of affective disorder, BDNF levels and salivary cortisol. *Psychoneuroendocrinology*, *34*(9), 1380–9. <http://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.04.014>
- Voltas, N., Aparicio, E., Arija, V., & Canals, J. (2015). Association study of monoamine oxidase-A gene promoter polymorphism (MAOA-uVNTR) with self-reported anxiety and other psychopathological symptoms in a community sample of early adolescents. *Journal of Anxiety Disorders*, *31*, 65–72. <http://doi.org/10.1016/j.janxdis.2015.02.004>
- Vos, T., Barber, R. M., Bell, B., Bertozzi-Villa, A., Biryukov, S., Bolliger, I., ... Murray, C. J. (2015). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, *386*(9995), 743–800. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60692-4](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60692-4)

## W

- Wang, L., Erlandsen, H., Haavik, J., Knappskog, P. M., & Stevens, R. C. (2002). Three-dimensional structure of human tryptophan hydroxylase and its implications for the biosynthesis of the neurotransmitters serotonin and melatonin. *Biochemistry*, *41*(42), 12569–74. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12379098>
- Waraich, P., Goldner, E. M., Somers, J. M., & Hsu, L. (2004). Prevalence and incidence studies of mood disorders: a systematic review of the literature. *Canadian Journal of Psychiatry. Revue Canadienne de Psychiatrie*, *49*(2), 124–138.
- Wassermann, E. M., & Zimmermann, T. (2012). Transcranial magnetic brain stimulation: therapeutic promises and scientific gaps. *Pharmacology & Therapeutics*, *133*(1), 98–107. <http://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.09.003>
- Weale, M. E. (2010). Quality control for genome-wide association studies. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, *628*, 341–72. [http://doi.org/10.1007/978-1-60327-367-1\\_19](http://doi.org/10.1007/978-1-60327-367-1_19)

## Bibliografia

- Weich, S., Blanchard, M., Prince, M., Burton, E., Erens, B., & Sproston, K. (2002). Mental health and the built environment: cross-sectional survey of individual and contextual risk factors for depression. *The British Journal of Psychiatry*, *180*(5), 428–433. <http://doi.org/10.1192/bjp.180.5.428>
- Weissman, M. M., Bland, R. C., Canino, G. J., Faravelli, C., Greenwald, S., Hwu, H. G. G., ... Yeh, E. K. K. (1996). Cross-National Epidemiology of Major Depression and Bipolar Disorder. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, *276*(4), 293–299. <http://doi.org/10.1001/jama.1996.03540040037030>
- Wellcome Trust Case Control Consortium. (2007). Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*, *447*(7145), 661–78. <http://doi.org/10.1038/nature05911>
- Wesner, M. F., & Tan, J. (2006). Contrast sensitivity in seasonal and nonseasonal depression. *Journal of Affective Disorders*, *95*(1-3), 19–28. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2006.03.028>
- Whiteford, H. A., Degenhardt, L., Rehm, J., Baxter, A. J., Ferrari, A. J., Erskine, H. E., ... Vos, T. (2013). Global burden of disease attributable to mental and substance use disorders: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*, *382*(9904), 1575–1586. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61611-6](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61611-6)
- Whiteford, H. A., Ferrari, A. J., Degenhardt, L., Feigin, V., & Vos, T. (2015). The global burden of mental, neurological and substance use disorders: an analysis from the Global Burden of Disease Study 2010. *PloS One*, *10*(2), e0116820. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0116820>
- Widom, C. S., & Brzustowicz, L. M. (2006). MAOA and the “cycle of violence:” childhood abuse and neglect, MAOA genotype, and risk for violent and antisocial behavior. *Biological Psychiatry*, *60*(7), 684–9. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.03.039>
- Williams, D. R., González, H. M., Neighbors, H., Nesse, R., Abelson, J. M., Sweetman, J., & Jackson, J. S. (2007). Prevalence and distribution of major depressive disorder in African Americans, Caribbean blacks, and non-Hispanic whites: results from the National Survey of American Life. *Archives of General Psychiatry*, *64*(3), 305–15. <http://doi.org/10.1001/archpsyc.64.3.305>
- Willis-Owen, S. A. G., Turri, M. G., Munafò, M. R., Surtees, P. G., Wainwright, N. W. J., Brixey, R. D., & Flint, J. (2005). The serotonin transporter length polymorphism, neuroticism, and depression: a comprehensive assessment of association. *Biological Psychiatry*, *58*(6), 451–456. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.04.050>
- Witztum, E., Margolin, J., Bar On, R., & Levy, A. (1995). Stigma, labelling and psychiatric misdiagnosis: origins and outcomes. *Med Law*, *14*(7-8), 659–669.
- World Health Organization. (1992). The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: clinical descriptions and diagnostic guidelines, 1–362. [http://doi.org/10.1002/1520-6505\(2000\)9:5<201::AID-EVAN2>3.3.CO;2-P](http://doi.org/10.1002/1520-6505(2000)9:5<201::AID-EVAN2>3.3.CO;2-P)
- World Health Organization. (2001). *The World Health Report 2001: Mental health: new understanding, new hope. World Health Report*. Retrieved from [http://www.who.int/whr/2001/en/whr01\\_en.pdf](http://www.who.int/whr/2001/en/whr01_en.pdf)
- Wray, N. R., Pergadia, M. L., Blackwood, D. H. R., Penninx, B. W. J. H., Gordon, S. D., Nyholt,



D. R., ... Sullivan, P. F. (2012). Genome-wide association study of major depressive disorder: new results, meta-analysis, and lessons learned. *Molecular Psychiatry*, 17(1), 36–48. <http://doi.org/10.1038/mp.2010.109>

Wright, S. L., & Persad, C. (2007). Distinguishing between depression and dementia in older persons: neuropsychological and neuropathological correlates. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 20(4), 189–98. <http://doi.org/10.1177/0891988707308801>

Wu, Y., Wang, X., Shen, X., Tan, Z., & Yuan, Y. (2012). The I/D polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene in major depressive disorder and therapeutic outcome: a case-control study and meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, 136(3), 971–8. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2011.08.019>

Wulsin, L. R., Vaillant, G. E., & Wells, V. E. (1999). A systematic review of the mortality of depression. *Psychosomatic Medicine*, 61(1), 6–17. <http://doi.org/10.1097/00006842-199901000-00003>

## X

Xiao, Z., Liu, W., Gao, K., Wan, Q., Yang, C., Wang, H., ... Liu, Z. (2011). Interaction between CRHR1 and BDNF genes increases the risk of recurrent major depressive disorder in Chinese population. *PloS One*, 6(12), e28733. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0028733>

## Y

Youdim, M. B. H., & Bakhle, Y. S. (2006). Monoamine oxidase: isoforms and inhibitors in Parkinson's disease and depressive illness. *British Journal of Pharmacology*, 147 Suppl (Suppl 1), S287–96. <http://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706464>

Youdim, M. B. H., Edmondson, D., & Tipton, K. F. (2006). The therapeutic potential of monoamine oxidase inhibitors. *Nature Reviews. Neuroscience*, 7(4), 295–309. <http://doi.org/10.1038/nrn1883>

Young, S. N. (2007). How to increase serotonin in the human brain without drugs. *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, 32(6), 394–9. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2077351&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Yu, Y. W. Y., Tsai, S. J., Hong, C. J., Chen, T. J., Chen, M. C., & Yang, C. W. (2005). Association study of a monoamine oxidase A gene promoter polymorphism with major depressive disorder and antidepressant response. *Neuropsychopharmacology*, 30(9), 1719–1723. <http://doi.org/10.1038/sj.npp.1300785>

## Z

Zalsman, G., Huang, Y. Y., Oquendo, M. a., Burke, A. K., Hu, X. Z., Brent, D. a., ... Mann, J. J. (2006). Association of a triallelic serotonin transporter gene promoter region (5-HTTLPR) polymorphism with stressful life events and severity of depression. *American Journal of Psychiatry*, 163(9), 1588–1593. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.163.9.1588>

## Bibliografía

- Zhang, J., Chen, Y., Zhang, K., Yang, H., Sun, Y., Fang, Y., ... Xu, Q. (2010). A cis-phase interaction study of genetic variants within the MAOA gene in major depressive disorder. *Biological Psychiatry*, *68*(9), 795–800. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.06.004>
- Zhao, X., Huang, Y., Ma, H., Jin, Q., Wang, Y., & Zhu, G. (2013). Association between major depressive disorder and the norepinephrine transporter polymorphisms T-182C and G1287A: a meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, *150*(1), 23–8. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2013.03.016>
- Zhao, X., Sun, L., Sun, Y. H., Ren, C., Chen, J., Wu, Z. Q., ... Lv, X. L. (2014). Association of HTR2A T102C and A-1438G polymorphisms with susceptibility to major depressive disorder: a meta-analysis. *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, *35*(12), 1857–66. <http://doi.org/10.1007/s10072-014-1970-7>
- Zintzaras, E. (2006). C677T and A1298C methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in schizophrenia, bipolar disorder and depression: a meta-analysis of genetic association studies. *Psychiatric Genetics*, *16*(3), 105–15. <http://doi.org/10.1097/01.ypg.0000199444.77291.e2>
- Zuckerman, M. (2002). Zuckerman-Kuhlman Personality Questionnaire (ZKPO): An alternative five-factorial model. In B. De Raad & M. Perugini (Eds.), *Big Five Assessment* (pp. 376–392). Ashland, OH, US: Hogrefe & Huber Publishers.
- Zunszain, P. A., Horowitz, M. A., Cattaneo, A., Lupi, M. M., & Pariante, C. M. (2013). Ketamine: synaptogenesis, immunomodulation and glycogen synthase kinase-3 as underlying mechanisms of its antidepressant properties. *Molecular Psychiatry*, *18*(12), 1236–41. <http://doi.org/10.1038/mp.2013.87>

## Publicaciones relacionadas

---

- Outeineh, L., Preisig, M., Rivera, M., Milaneschi, Y., Castelao, E., Gholam-Rezaee, M., ... Eap, C. B. (2016). Association of CRTC1 polymorphisms with obesity markers in subjects from the general population with lifetime depression. *Journal of Affective Disorders*, 198, 43–49. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2016.03.031>
- Cervilla, J., Ruiz-Pérez, I., Rodríguez-Barranco, M., Rivera, M., Molina, E., Valmisa, E., ... Gutiérrez, B. (2015). Study Protocol and Methods in the Andalusian Epidemiological Mental Health Study: The PISMA-ep Study. *Revista de Psiquiatría Y Salud Mental*. ISSN: 1888-9891. *En prensa*.
- Rivera, M., Locke, A. E., Corre, T., Czamara, D., Wolf, C., Ching-Lopez, A., ... McGuffin, P. (2015). Genetic Relationship Between Depression and Body Mass Index. *European Psychiatry*, 30, 710. [http://doi.org/10.1016/S0924-9338\(15\)30560-5](http://doi.org/10.1016/S0924-9338(15)30560-5)
- Ching-López, A., Cervilla, J., Rivera, M., Molina, E., McKenney, K., Ruiz-Perez, I., ... Gutiérrez, B. (2015). Epidemiological support for genetic variability at hypothalamic-pituitary-adrenal axis and serotonergic system as risk factors for major depression. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 11, 2743–54. <http://doi.org/10.2147/NDT.S90369>
- Ching-López, A., Rivera, M., Cervilla, J., McKenney, K., Molina, E., Ruiz-Perez, I., ... Gutiérrez, B. (2015). Genes del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal y de la neurotransmisión serotoninérgica se asocian con depresión mayor. En Montes, M. R., García, J. M. & Durán, R. (Ed.), *Encuentros en Neurociencias Vol. III (pp. 59-78)*. Granada: Editorial Universidad de Granada. ISBN: 978-84-338-5819-1
- Ching-López, A. & Gutiérrez, B. (2013). Avances en genética psiquiátrica: luces y sombras de una disciplina compleja. En Gámiz, F., Gallo, M., & Vives, P. (Ed.), *Encuentros en Neurociencias Vol. II (pp. 181-210)*. Granada: Ciber S. C. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10481/20289> ISBN: 978-84-96876-87-7
- Rivera, M., Locke, A. E., Corre, T., Czamara, D., Wolf, C., Ching-Lopez, A., ... McGuffin, P. (2016). The effect of the FTO gene on body-mass index is increased by the presence of depressive disorder: A meta-analysis of 13,701 individuals. *En revisión en British Journal of Psychiatry*.
- Bandrés, S., Durán, R., Barrero, F. J., Escamilla-Sevilla, F., Pelegrina, J., Medina, J. A., ... Vives, F. (2016). Genetic association study of Parkinson's disease related-loci in Southern Spain. *Enviado a Neurobiology of Aging*.