

# Evaluación de la variante 5-HTTVNTR (STin2) del gen SLC6A4 y la premutación del gen *fmr-1* como factores de riesgo en pacientes diagnosticados con trastorno depresivo mayor en Colombia

Melissa Tovar Parra

Universidad de Los Andes

Facultad de ciencias Biológicas

Centro de Investigaciones Genéticas en Enfermedades Humanas

---

**Resumen.** El trastorno depresivo mayor (MDD), es un trastorno multifactorial, catalogado como una de las enfermedades más comunes e incapacitantes a nivel mundial. Los objetivos de este estudio fueron evaluar el perfil psicológico en pacientes MDD; e identificar si el polimorfismo 5-HTTVNTR (STin2) del gen del transportador de serotonina o la premutación del gen *fmr-1* puede definirse como un factor de riesgo a depresión. Para esto, se llevó a cabo la genotipificación pacientes y controles pareados por sexo, edad y escolaridad para el 5-HTTVNTR, y de un grupo de casos para el *fmr-1*; los esquemas psicológicos se evaluaron mediante 4 cuestionarios (M.I.N.I, STAI, IDER y *YSQ SF*). Para la variante 5-HTTVNTR se observó que el alelo 10 está presente con mayor frecuencia en controles, y el genotipo 12|12 en casos. Análisis estadísticos mostraron que esta tendencia es significativa ( $p= 0.0145$ ). Se encontró una asociación entre abuso y MDD ( $p= 0.025$ ), al igual que entre los eventos negativos y MDD ( $p= 0.00382$ ); existe una tendencia a padecer MDD cuando se ha sufrido maltrato, sin embargo este resultado no fue significativo ( $p= 0.065$ ). Ninguna de las interacciones entre el genotipo del 5HTTVNTR y alguno de los factores ambientales revelaron asociaciones significativas con MDD. Es necesario aumentar el tamaño de la muestra para corroborar los resultados. Resultados para el *fmr-1* sugieren que no existe una asociación a MDD.

## 1. Introducción

La depresión es uno de los trastornos mentales más comunes e incapacitantes, siendo la primera causa de atención psiquiátrica en el mundo (Hamet, 2005; Caycedo y Jiménez, 2005). Se conoce que afecta aproximadamente al 25% de las mujeres y 17% de los hombres de la población mundial, encontrándose que un aproximado de 350 millones de personas padecen depresión (Liu et al. 2010). Siendo su estudio de vital importancia, ya que esta trae consigo graves consecuencias sociales y económicas (Gotlib y Joormann, 2010), y posee además un mayor riesgo a suicidio comparado con otras enfermedades psiquiátricas (Mandelli & Serreti, 2012).

En el trastorno depresivo mayor (MDD – major depressive disorder por sus siglas en ingles), la tristeza, pérdida del interés, incapacidad para sentir placer, así como sentimientos de culpa

o falta de autoestima, trastornos de sueño y apetito, sensación recurrente de cansancio y falta de concentración; son algunos de los síntomas fisiológicos, comportamentales y cognitivos. Para ser diagnosticado con MDD, el individuo debe presentar al menos 5 de los síntomas mencionados y necesariamente presentar alguno de estos dos síntomas, 1. Estado de ánimo depresivo o 2. Pérdida del interés o de la capacidad para sentir placer, en un periodo de dos semanas consecutivas (Vásquez y Sanz, 1995).

El MDD es un trastorno multifactorial, que involucra una cantidad considerable de factores, dentro de estos factores es posible resaltar: genes de susceptibilidad y causas sociales y/o ambientales que brindan vulnerabilidad (Haenisch et al. 2011).

### **Factores ambientales**

Se ha observado que el estilo de vida y eventos cotidianos están asociados al desarrollo de MDD. En un estudio realizado por Hammen (2005) se concluyó que eventos de la vida catalogados como estresores se asocian con un mayor riesgo a presentar síntomas de depresión. Se ha visto que estos eventos estresores comprometen el bienestar psicológico de la población general (Luhmann et al. 2012). Estos eventos los podemos agrupar en dos grupos importantes: experiencias negativas tempranas, que incluyen experiencias vividas durante la infancia o adolescencia; y experiencias negativas recientes las ocurridas durante los seis meses anteriores al episodio depresivo mayor (Harkness et al. 2010). Dichos estresores incluyen sucesos vitales o estresores menores (Sullivan et al. 2000).

Los sucesos vitales son aquellos acontecimientos que amenazan con cambiar las actividades cotidianas o rutina del individuo, Los sucesos vitales incluyen experiencias como divorcio o separación, cuidar por un ser querido enfermo, muerte de un familiar o amigo cercano, cambios negativos en cuanto a salud o estado financiero (Wheeler et al. 2014). Por otra parte, los estresores menores son acontecimientos de menor impacto para el individuo que se presentan en general con mayor frecuencia e incluyen sucesos diarios irritantes tales como: problemas económicos menores y problemas familiares, entre otros. Cabe resaltar que los sucesos vitales como los eventos estresores podrían presentarse en la vida del individuo de manera interactiva e incluso llegar a solaparse (Sullivan et al. 2000).

Por otra parte, se ha reportado también que el experimentar eventos estresores durante la infancia está relacionado con el desarrollo de MDD y la severidad de sus síntomas; esto debido a que eventos traumáticos o estresantes en el desarrollo temprano tiene efectos de larga duración en el desarrollo del cerebro; especialmente, los sistemas neuronales y endocrinos que regulan la respuesta a estrés exhiben alteraciones persistentes después de que el individuo se vio expuesto a dichos eventos (Gillespie & Nemeroff, 2005). El experimentar estrés en la infancia; como el abuso sexual y maltrato físico o emocional puede resultar en cambios en el cerebro que hacen al individuo más vulnerable a desarrollar MDD (Behavioral health, 2015). Teniendo en cuenta estos factores ambientales, la depresión la podemos definir como una respuesta a la adversidad, en la cual solo los individuos que quedan atrapados en una interpretación negativa de esta tienden a desarrollar el trastorno (Willner et al. 2013).

### **Factores genéticos**

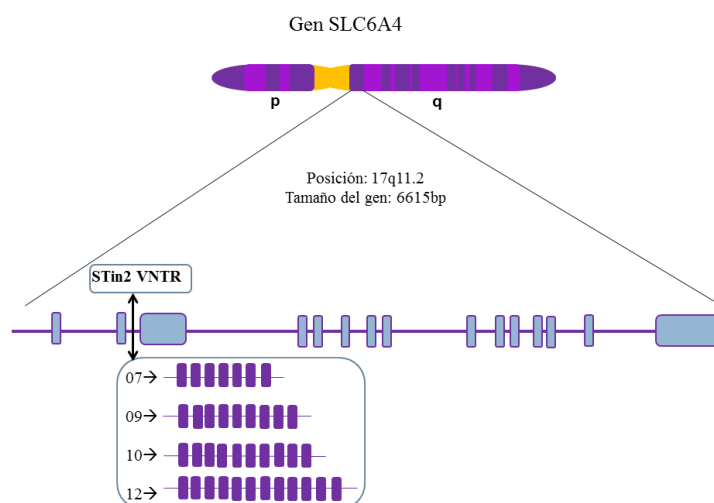
Individuos con una historia familiar de MDD son más vulnerables a sufrir el trastorno al verse expuestos a los eventos mencionados (Kim et al. 2007). De este modo, se puede inferir que no solo el ambiente brinda susceptibilidad, pues no todas las personas que están expuestas a estos factores presentan MDD en algún momento de sus vidas (Caspi et al. 2003). Se sugiere entonces que la herencia es un factor importante que brinda susceptibilidad genética al desarrollo de trastornos psiquiátricos que incluyen depresión y/o de ansiedad (Al, 2003).

Estudios recientes afirman que la heredabilidad de trastornos unipolares como lo son MDD es de 33%, mientras que factores ambientales contribuyen en un 67% a la génesis de la enfermedad (Sarosi et al. 2008). Teniendo en cuenta esto la génesis del trastorno depresivo mayor no puede atribuirse exclusivamente al componente genético, por lo cual se habla de la genética como un factor de riesgo y no como una causa directa. Investigaciones han demostrado que los genes influyen la tendencia a MDD, no solamente porque generen un riesgo o predisposición genética, sino porque también podrían controlar la respuestas a efectos patógenos del ambiente (Bukh et al. 2009).

### Variante 5-HTTVNTR (STin2)

Algunos polimorfismos genéticos posiblemente asociados a MDD se encuentran involucrados en la ruta metabólica de la serotonina (Levinson, 2006; Munafò et al. 2008). Esto, teniendo en cuenta que la neurobiología del trastorno depresivo mayor explica que se presentan cambios en la bioquímica y estructura del cerebro en individuos con depresión. Dichos cambios pueden estar relacionados con los niveles de serotonina (5-HT), la cual es sintetizada a partir del precursor L-triptófano, para luego ser almacenada en vesículas y posteriormente ser liberada al entrar  $\text{Ca}^{2+}$  a la terminal presináptica; después la 5-HT es recapturada en el espacio sináptico por un transportador presináptico específico de la 5-HT (SERT/SLC6A4), los fármacos antidepresivos previenen la recaptación excesiva de 5-HT por parte de dicho transportador (Nestler et al. 2002, Bonvicini et al. 2010) dándole una gran importancia como gen candidato.

Dentro de esta ruta se encuentra el gen transportador de la serotonina (SLC6A4) que es el encargado de la absorción de serotonina de las neuronas presinápticas a las post sinápticas, proceso que disminuye los niveles de serotonina, generando un estado de ánimo deprimido cuando la reabsorción es mayor de lo normal (Caspi et al. 2003, Carli et al. 2011). El gen SLC6A4 mostrado en la figura 1, se encuentra en el brazo largo del cromosoma 17, su tamaño es de 6615bp, y lo forman 15 exones que codifican para una proteína integral de membrana, encargada de transportar las moléculas de serotonina liberadas al espacio inter-sináptico de regreso a las neuronas pre sinápticas (Saiz et al. 2008). Para el presente estudio se evaluó la variante 5-HTTVNTR del SLC6A4.



**Figura 1.** Gen SLC6A4 que se encuentra en el brazo largo del cromosoma 17 posición 11.2, en el intron 2 se observa la variante 5-HTTVNTR (STin2) y sus cuatro alelos (7, 9, 10 y 12).

El polimorfismo 5-HTTVNTR (STin2) mostrado en la figura 1, posee una unidad de repetición en tándem de 17 nucleótidos, y presenta dos alelos comunes (10 y 12 unidades de repetición), y dos alelos raros (7 y 9 unidades de repetición); se localiza en el intrón 2 del SLC6A4 (Sarosi et al. 2008). Aunque esta variante no ha sido ampliamente estudiada, estudios recientes han observado una posible relación con desordenes de atención y agresión (Eley et al. 2004).

Así mismo, en la investigación realizada por Sarosi y colaboradores, se encontró el genotipo homocigoto 10/10 con mayor frecuencia en pacientes diagnosticados con depresión que en controles, (Sarosi et al. 2008). López y colaboradores encontraron la misma relación para el alelo 10 en pacientes diagnosticados con depresión y que además habían llevado a cabo actos suicidas, sugiriendo al alelo 10 como un alelo de riesgo a suicidio en pacientes con trastorno MDD (López de Lara et al. 2005). Teniendo en cuenta lo anterior es de gran importancia el estudio de esta variante, con el fin de identificar si existe una relación de alguno de los alelos como alelo de riesgo o susceptibilidad a depresión en población colombiana.

#### Interacción gen x ambiente

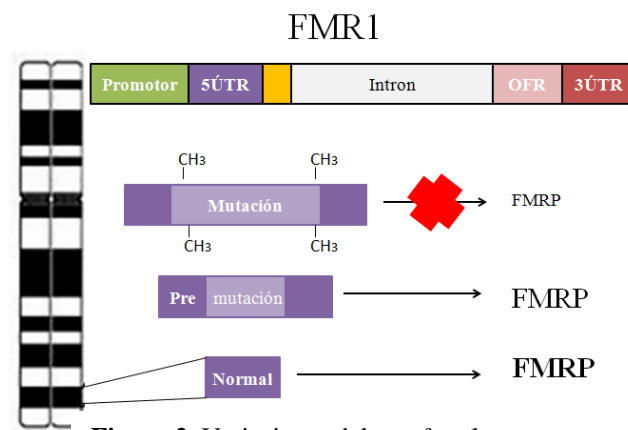
Teniendo en cuenta que MDD es un trastorno multifactorial, es importante entender la posible interacción entre factores ambientales y genéticos, al estudiar el polimorfismo 5HTTVNTR (STin2) y MDD. Las interacciones gen-ambiente reflejan un mecanismo en el cual una o más variantes genéticas y uno o más factores ambientales contribuyen al desarrollo de una condición en un individuo, en el cual los factores genéticos influyen la sensibilidad al ambiente (Lopizzo et al.2015). Estudios de interacción gen-ambiente pueden ser útiles para elucidar el rol de los mecanismos biológicos como riesgo para el desarrollo de trastornos mentales (Mandelli & Serreti, 2012).

Estudios de interacción SLC6A4-ambiente se enfocaron inicialmente en otra variante denominada 5-HTTLPR encontrado una interacción gen-ambiente, donde el 5HTTLPR ejerce un efecto moderador en el riesgo a desarrollar MDD después de la exposición a riesgos ambientales (Caspi et al. 2003, Munafò et al. 2009, Risch et al. 2009, Clarke et al. 2010, Karg et al. 2011). Y esto mismo se ha estudiado y encontrado en muchos otros genes tales como los receptores de serotonina 1A (HTR1A) y 2A (HTR2A), genes que codifican para la

triptófano hidrolasas 1 and 2 (TPH1 y TPH2), el transportador de noradrenalina SLC6A2, el polimorfismo Val66Met del BDNF, entre otros (Brezo et al. 2010, Jokela et al. 2007, Bukh et al. 2009, Xu et al. 2009, Hosang et al. 2014), sin embargo no se encuentran estudios que hayan analizado esta interacción para la variante 5HTTVNTR, siendo de vital importancia comenzar con dicho estudio.

### **Premutación en el gen *fmr-1***

Cambios en el gen *fmr-1* podrían también estar relacionados con el desarrollo de trastorno depresivo mayor (Basuta et al.2014, Heather et al. 2013, Hunter et al. 2010, Roberts et al. 2008). El gen *fmr-1* se ubica en el cromosoma X posición Xq27.3 y tiene un tamaño de 38kb, está principalmente asociado al síndrome del X frágil (FXS) debido a una mutación que consiste en la expansión de 200 repeticiones CCG en la región UTR del gen (Koukoui et al. 2007; Hessler et al.2005). El alelo silvestre es altamente polimórfico con un número de repeticiones entre 6 y 53, este número de repeticiones CGG permite que el gen codifique para niveles normales de la proteína FRMP, la cual es importante para un desarrollo normal del cerebro (Obadia et al. 2015), y es esencial para la maduración neuronal (Bassell y Warren, 2008, Wheeler et al. 2014); pues es regula la traducción de cientos de mensajeros importantes para la plasticidad sináptica y el desarrollo intelectual (Darnell et al. 201, Fatemi et al. 2011).



**Figura 2.** Variaciones del gen *fmr-1*.

Individuos con 50 a 200 repeticiones son portadores de la premutación (Bourgeois et al. 2009). La prevalencia de la premutación es de 1 de cada 813 hombres y 1 de cada 259 mujeres

(Hessl et al. 2005, Obadia et al. 2015, Bourgeois et al. 2009). En mujeres este rango es inestable y presenta un alto riesgo de expansión durante la ovogénesis (Oostra and Willemsen, 2009). Aunque se pensaba que portadores de la premutación eran asintomáticos, estudios recientes han demostrado un riesgo a presentar problemas médicos, cognitivos, emocionales y psiquiátricos (Wheeler et al. 2014). Dentro de las características psiquiátricas en individuos de ambos sexos portadores se encontró ansiedad, depresión, irritabilidad, cambio en la personalidad, desinhibición, e incapacidad cognitiva. Resaltándose asociación con una prevalencia alta de desórdenes de ansiedad y depresión (Seritan et al. 2013, Hagerman et al. 2004, Brouwer et al. 2008, Coffey et al. 2008, Rodríguez- Revenga et al. 2009, Chonchaiya et al. 2010, Leehey et al. 2011, Basuta et al. 2014, Wheeler et al. 2014, Johnston et al. 2001, Hunter et al. 2008, Roberts et al. 2008). Se sugiere también que individuos con la premutación presentan un incremento en la respuesta a estrés (Bourgeois et al. 2009, Seritan et al. 2013, Seltzer et al. 2011).

Estudios de la premutación y sus efectos son de gran importancia pues constituyen un problema de salud social significativo, en lo que respecta a salud en el espectro de vida infantil, fitness reproductivo en mujeres, y envejecimiento (Tassone et al. 2000). Por lo cual su estudio es de vital importancia, y además es relevante en MDD teniendo en cuenta la evidencia mencionada. Por lo cual en el presente proyecto se quiso estandarizar un método rápido y económico de PCR para la identificación de la premutación, con el fin de obtener resultados preliminares en una muestra de casos.

El trabajo presentado hace parte de un proyecto macro el cual busca entender la interacción entre los eventos estresores y los factores genéticos y epigenéticos en el trastorno depresivo mayor. El proyecto macro es un proyecto colaborativo entre el departamento de psicología y el departamento de ciencias biológicas. Este trabajo pretende evaluar la vulnerabilidad genética y psicológica en pacientes con diagnóstico de MDD. Para esto se plantearon como objetivos: identificar la premutación del gen *fmr-1* en individuos diagnosticados con MDD; identificar una asociación de la variante 5-HTTVNTR del gen SLC6A4 en individuos diagnosticados con MDD con respecto al grupo control; determinar la relación entre la ocurrencia de algún suceso vital y/o estresor menor y la aparición del trastorno depresivo

mayor; identificar si hay una posible interacción gen\*ambiente en el desarrollo de MDD, teniendo en cuenta el genotipo para la variante 5-HTTVNTR y la ocurrencia o ausencia de sucesos vitales y/o estresores menores.

## **2. Metodología**

### **a. Muestra Clínica:**

Los casos fueron pacientes diagnosticados con trastornos psiquiátricos internalizantes en la clínica la inmaculada, Bogotá- Colombia. Para esto se tuvieron en cuenta todos los pacientes que presentaran algún diagnóstico de MDD; se excluyeron aquellos pacientes con algún síndrome mental causante de los síntomas afectivos, demencia; trastorno bipolar, distímico, o sicótico; se tuvo en cuenta que pacientes presentaron situaciones de abuso, ya fuera psicológico, físico o sexual.

### **Consideraciones éticas**

Este estudio fue evaluado y aprobado por el comité de ética de la investigación de la Universidad de los Andes, adicionalmente se obtuvo el consentimiento informado de los pacientes y controles que decidieron participar en el estudio, todos los individuos participan en el estudio de manera voluntaria.

### **Cuestionarios Psicológicos**

Todas las pruebas psicológicas fueron aplicadas por personal calificado del departamento de psicología de la Universidad de Los Andes. Para el diagnóstico del trastorno depresivo mayor, se utilizó la entrevista M.I.N.I (*Entrevista Estructurada Mini International Neuropsychiatric Interview MINI*), la cual se caracteriza por ser una entrevista psiquiátrica estructurada para ensayos clínicos y estudios epidemiológicos, esta fue creada para evaluar los desórdenes psiquiátricos del CIE-10 y el DSM IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders), y su realización toma aproximadamente 15 minutos (Sheehan et al. 1998). La ventaja principal de la entrevista M.I.N.I, radica en que su tiempo de aplicación es corto, y su confiabilidad es alta (Ferrado et al. 2000).

Para obtener el perfil psicológico de cada paciente se utilizaron 4 cuestionarios. El Cuestionario de Depresión Estado-Rasgo IDER, que es una prueba compuesta por 20 ítems, que identifican la frecuencia de ocurrencia del componente afectivo de depresión, y el grado



de afectación que dicho componente tiene en la persona, analizando a su vez la presencia y frecuencia de afectividad negativa (Soletto et al. 2012). Por otro lado, el inventario de ansiedad Estado-Rasgo (STAI) que mide y diferencia la ansiedad como un rasgo o estado, midiendo frecuencia e intensidad con la cual la ansiedad se presenta en el individuo a través del tiempo (Barnes et al. 2012).

El cuestionario de sucesos vitales se compone de 60 sucesos vitales, relacionados con la vida familiar, escolar, de pareja, social, económica y salud; el objetivo de la prueba es medir el grado de estrés que estos sucesos generan en el individuo, y así mismo evalúa la percepción que el individuo tiene respecto a cada suceso (Gonzales et al. 2012).

### **Extracción de ADN en sangre total**

Se realizó extracción de ADN en sangre total de la muestra de los pacientes. Para lo anterior se utiliza un procedimiento estándar con el kit Corpogen™ DNA2000.

### **b. Controles**

Los controles son individuos de Bogotá, pareados por sexo, edad y escolaridad a los casos; dichos individuos no presentan ni han presentado a lo largo de su vida algún trastorno psiquiátrico internalizante de los mencionados anteriormente, ni tienen una relación consanguínea con los casos u otros controles. Para los controles se realizan los mismos cuestionarios de la muestra clínica. La prueba MINI es determinante en la elección de los controles, ya que como se mencionó anteriormente dicha entrevista evalúa la presencia de desordenes psiquiátricos del CIE-10 y el DSM IV.

### **Extracción de ADN de saliva**

Para la extracción de ADN, se tomaron muestras de células bucales de cada control. Para la extracción se utilizó el kit PSP® SalivaGene DNA.

### **c. Genotipificación**

#### **Variante 5-HTTVNTR del gen SLC6A4:**

Para la genotipificación del polimorfismo 5-HTTVNTR (STin2) se llevó a cabo una amplificación por medio de PCR; se utilizaron los primers Stin2F 5'-

GTCTGGCGCTTCCCCTACATAT -3' y Stin2R 5'-TCTGTCTTCTGGCCTCTCAAG -3', la PCR se desarrolló para un volumen final de 25 µl que contenía 12,5 µl de Master Mix (Promega), 8,5 µl de Agua ultra purificada, 1 µl (10ng/ µl) de primer forward y reverse, y 2 µl de DNA (20ng/µl); la temperatura inicial de anillaje fue de 94°C por 5 min, continuado con una elongación compuesta por 35 ciclos de 94°C (30seg), 64,7°C (30 s) y 72°C (45 s) y finalmente una elongación final a 72°C 10 min. Posteriormente utilizando un gel de alta resolución al 1.5% de agarosa metafor y 2% agarosa, se identifica el genotipo de cada individuo.

### **Identificación de la premutación del X-frágil**

Se estandarizó un método de Screening rápido fundamentado en PCR. Se utilizaron los primers forward y reverse respectivamente (5-GCTCAGCTCCGTTTCGGTTTCACTTCCGGT-3'; 5'AGCCCCGCACTTCCACCACCAGCTCCTCCA-3') descritos por Tassone y colaboradores. Las condiciones a las cuales se logró la amplificación fueron las siguientes; se desarrolló para cada reacción de PCR un volumen final de 25 µl que contenía 10 µl de Master Mix (KAPA HiFi), 11,5 µl de Agua ultra purificada, 0,75 µl (10ng/ µl) de primer forward y 0,75 µl (10ng/ µl) de primer reverse, 1 µl de Betaina 1M y 1 µl de DNA (75ng/µl); la temperatura inicial de anillaje fue de 95°C por 3 min, continuado con una elongación compuesta por 35 ciclos de: 98°C (20seg), 76°C (15seg) y 72°C (30seg) y finalmente una elongación final a 72°C 1 min. Posteriormente utilizando un gel al 2% agarosa, se identificó el genotipo de cada individuo teniendo en cuenta que un alelo normal se encuentra entre 200 -450kb.

#### **d. Análisis estadístico**

Se realizó el siguiente análisis para evaluar la asociación entre el 5-HTTVNTR (STin2) y MDD: Primero se verificó que la muestra se encontrara en equilibrio de Hardy-Weinberg. A continuación se asumió un modelo dominante para el alelo 10, en donde este es tomado como el alelo de riesgo teniendo en cuenta lo encontrado anteriormente (Eley et al. 2004, Sarosi et al. 2008). Se utilizó el software R para evaluar el modelo mostrado en la figura 3.



**Figura 3.** Modelo de regresión logística múltiple para el STin2.

Se realizó una regresión logística múltiple, de este modo se evaluó la asociación entre los genotipos (10|10 +10|12, y, 12|12) y los dos grupos estudiados (casos y controles), así como la relación entre maltrato y MDD, abuso y MDD, en casos y controles; y finalmente las interacciones Genotipo STin2 \* Maltrato y MDD, y Genotipo STin2 \* Abuso y MDD. Para todos los análisis se tiene en cuenta un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ . En todos los casos se ajustó el valor p por medio de una corrección de Bonferroni con el fin de controlar y minimizar error tipo I.

### 3. Resultados

#### a. Evaluación perfil psicológico

Para la evaluación del perfil psicológico de casos y controles se compararon medias y medianas, realizando una prueba de Levene y prueba T, para todos los cuestionarios las diferencias fueron significativas entre el grupo control y el grupo de los casos. Los valores pueden observarse en la tabla 1.

**Tabla 1.** Evaluación diferencia en perfil psicológico de pacientes y controles.

Cuestionario	Prueba Levene		Prueba T	
	F	Valor- p	T	Valor- p
Sucesos vitales	8.339	0.005	-3.227	0.002
STAI	4.128	0.046	-4.783	0.000
IDER- Rasgo	10.416	0.002	-6.966	0.000

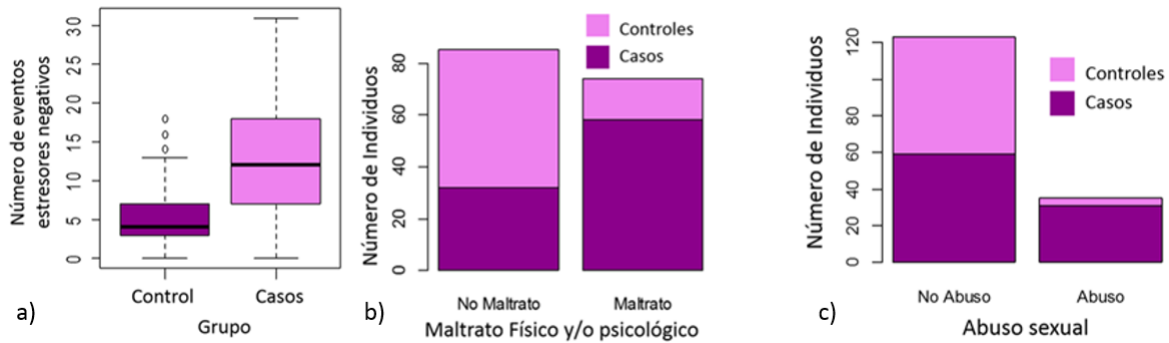
#### b. Variante 5-HTTVNTR (STin2)

Se genotipificaron 84 pacientes y 71 controles. Al analizar los datos se encontró que la muestra se encuentra en equilibrio de Hardy Weinberg, ya que se obtuvo un chi-

cuadrado=2.03 de con un valor-p=0.31. A continuación, se observaron las frecuencias alélicas del alelo 10 y el alelo 12 para casos y controles, se encontraron individuos con el alelo raro 9, sin embargo para el análisis estadístico estos individuos se incluyeron dentro de los portadores del alelo 10 (Tabla 2).

<b>Tabla 2. Frecuencias genotípicas y alélicas de la variante STin2</b>				
5-HTTVNTR (STin2)	Genotipo	N (%)	Alelo	N (%)
Casos (N= 84 )	9 9	0 (0)	9	4 (2.4%)
	9 10	4 (4.8%)		
	10 10	12 (14.3%)	10	60 (35.7%)
	10 12	32 (38.1%)		
	12 12	36 (42.8%)	12	104 (61.9%)
Controles (N=71)	9 9	1 (1.4%)	9	2 (1.4%)
	9 10	0 (0)		
	10 10	18 (25.4%)	10	67 (47.2%)
	10 12	31 (43.7%)		
	12 12	21 (29.6%)	12	73 (51.4%)

**Análisis de asociación.** Se encontró una asociación significativa entre el genotipo de la variante 5-HTTVNTR (STin2) y MDD ( $p= 0.0145$ ), así mismo entre abuso y MDD ( $p= 0.025$ ) como puede observarse en la figura 5.c, y finalmente entre los eventos negativos y MDD ( $p= 0.00382$ ), en la figura 5.a puede observarse el número de eventos negativos y como varía su ocurrencia entre el grupo de casos y grupo control; finalmente en la figura 5.c puede observarse que existe una tendencia a padecer MDD cuando se ha sufrido maltrato, sin embargo este resultado no fue significativo ( $p= 0.065$ ).



**Figura 5.** Número de eventos negativos, maltrato, y abuso sexual como factores de riesgo a MDD. Para todos los análisis se tiene en cuenta un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ . a) Incremento en el número de eventos estresores negativos está asociado a MDD  $p= 0.00$  b) Maltrato físico o psicológico no se asocian a MDD, sin embargo se observa una tendencia  $p= 0.06$ . c) Abuso sexual se asocia a MDD,  $p= 0.03$ .

**Análisis de interacción Gen x Ambiente.** En ninguna de las interacciones se encontraron asociaciones significativas con MDD. A continuación se muestran estos resultados en la tabla 2.

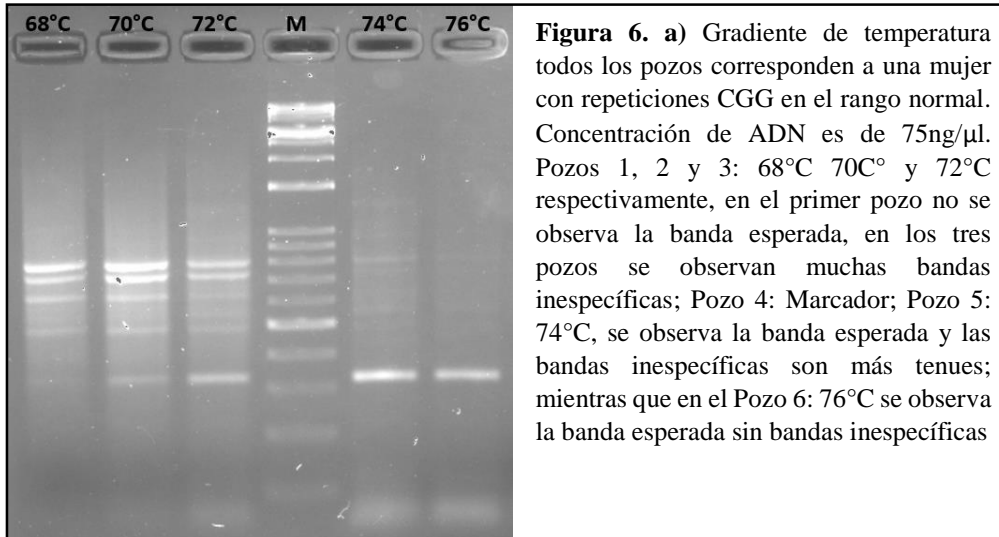
**Tabla 1.** Análisis de asociación e interacción.

	$\beta$	Error estándar	p
<b>STin 2</b>	-0,42	0,17	0,01
<b>Maltrato</b>	0,23	0,12	0,06
<b>Abuso</b>	0,30	0,13	0,03
<b>Eventos negativos</b>	0,60	0,20	0,00
<b>STin2 * Maltrato</b>	0,09	0,15	0,56
<b>STin2 * Abuso</b>	-0,14	0,17	0,40
<b>STin2 * Eventos negativos</b>	0,40	0,26	0,14

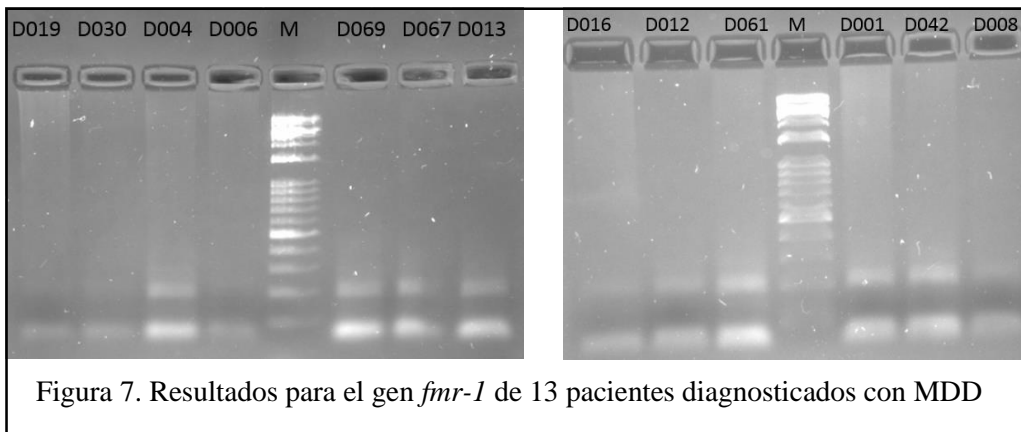
### c. Premutación del gen *fmr-1*

Debido al gran número de repeticiones CGG que se encuentran en el fragmento a amplificar la estandarización de este PCR requirió de muchos ensayos. En todos los ensayos se utilizó betaina 1M, con el fin de aumentar la especificidad de la enzima en estas regiones altamente repetitivas. Se realizó un gradiente y de este modo se estableció 76°C como la temperatura de anillaje óptima (Figura 6) a la cual se amplificaba el fragmento esperado entre 221kb y 450kb (Tassone et al. 2008, Saluto et al. 2005), de una mujer con un número de repeticiones CGG en el rango normal (4-55 repeticiones), y se eliminaba por completo la amplificación

de fragmentos inespecíficos. Se ha registrado que el número de repeticiones CGG más frecuente en población sana se encuentra en el rango de 26 a 30 repeticiones (Chiauzzi et al. 2010).



En total se genotipificaron 46 casos. En todos aquellos se encontró un número de repeticiones CGG dentro del rango normal y probablemente más frecuente de la población (26 – 30). No todos los casos pudieron ser genotipificados. Los resultados se muestran en la figura 7.



#### 4. Discusión y conclusiones

Igual a como está reportado en la literatura en nuestro estudio se observó que existe una diferencia significativa en lo que respecta a eventos estresores y su percepción entre los

controles y los casos; esto se concluyó a partir de los resultados obtenidos al evaluar los puntajes de los cuestionarios psicológicos (Tabla 1); esto confirmó que realmente se tenía una muestra clínica y una muestra control para MDD. Teniendo en cuenta lo anterior se continuó el análisis genético, ambiental y de interacción. En cuanto al componente genético para la variante 5-HTTVNTR (STin2), al observar la tabla 1, el 79,1% de los controles presentaron los genotipos 10/12 y 10/10, esto es contrario a lo asumido para el análisis, pues en este se tomó en cuenta al alelo 10 como alelo de riesgo a MDD, sin embargo los resultados sugieren que este podría ser un alelo protector, dejando al alelo 12 como un posible alelo de riesgo a MDD, teniendo en cuenta además que este último se encontró en 61,9% de los casos.

Al realizar la regresión logística múltiple, esta asociación fue significativa ( $p=0.01$ ), sugiriéndose que existe una asociación entre alelo 10 y no padecer MDD, y entre alelo 12 y MDD; esto es contrario a lo que han reportado varios estudios (Sarosi et al. 2008, Eley et al. 2004, Caspi et al. 2003). Por ejemplo en un estudio funcional realizado por Lee y colaboradores en el año 2011 sostienen que el transportador de Serotonina (5-HTT) regula la neurotransmisión sináptica de la 5-HT, y mencionan que se ha observado una menor eficiencia en la transcripción y por tanto menos disponibilidad de 5-HTT asociada al alelo 10 de la variante 5-HTTVNTR.

Sin embargo otros investigadores han obtenido resultados similares a los nuestros o que en cierta forma apoyan nuestros hallazgos; por ejemplo en un estudio realizado por López y colaboradores, se reportó una relación entre el alelo 10 y una menor actividad del transportador de serotonina (López et al. 2005), esto se relaciona con un menor riesgo a MDD, teniendo en cuenta que se evita una excesiva recaptación de serotonina por parte del transportador. Es importante resaltar que el presente proyecto, es el primer estudio de la variante 5-HTTVNTR (STin2) realizado en pacientes diagnosticados con MDD en Colombia, por lo cual se sugiere su continuación con el fin de evaluar un tamaño de muestra mayor y corroborar así la veracidad de nuestros resultados.

Ya que MDD es un trastorno multifactorial y no se puede atribuir al componente genético como causa absoluta, se evaluó la existencia de una relación entre los factores ambientales de riesgo (que incluyeron abuso sexual, maltrato físico y/o psicológico, y el número de eventos negativos vividos por el individuo) y MDD; Se obtuvo que el presentar abuso sexual

y un mayor número de eventos estresores negativos presenta una asociación significativa con MDD ( $p= 0.03$ , y,  $p= 0.00$  respectivamente). Aunque la relación entre presentar algún tipo de maltrato y MDD no es significativa ( $p= 0.06$ ); se sugiere una tendencia, teniendo en cuenta no solo lo reportado por otros autores, en donde se asocia maltrato con MDD (Lewinsohn et al. 1988, Kessler et al. 1995, Kendler et al. 2000, Kendler et al. 2002), si no también que la mayoría de los controles no sufrieron ningún tipo de maltrato y que el número de casos que padecieron maltrato es considerablemente mayor que los controles maltratados física o psicológicamente (Figura 5.c).

En cuanto a la interacción entre la variante 5-HTTVNTR (STin2) y los factores ambientales, en ningún caso se observó una asociación significativa con MDD. Estudios anteriores reportan interacción entre polimorfismos genéticos del 5-HTT y eventos estresores con MDD, sin embargo esos reportes no son específicos para el STin2 (Drachmann et al. 2009, Kim et al. 2007). Adicionalmente, en un reporte realizado por Munafò y colaboradores encontraron que tan solo una minoría de estudios, en los cuales evaluaban polimorfismo genéticos y su interacción con el ambiente como casusa de MDD, lograron replicar resultados en los cuales se obtuvieron asociaciones significativas para la interacción 5-HTTVNTR (STin2) \* ambiente (Munafò et al. 2009). Esto sugiere entonces que no hay una interacción. Sin embargo teniendo en cuenta el que MDD sea un trastorno multifactorial, implica que es muy poco probable que un factor actúe independiente del otro, se propone la continuación del estudio aumentando el número de casos y controles; e incluyendo individuos de todas las regiones del país para poder concluir en población colombiana.

Aunque se ha reportado una asociación entre MDD y la premutación (Basuta et al.2014, Heather et al. 2013, Hunter et al. 2010, Roberts et al. 2008); a diferencia de esos estudios nuestro proyecto tomo población clínica que no reporta una historia familiar de x-frágil, o al menos no se tiene conocimiento de ello. Teniendo en cuenta que la prevalencia de la premutación es de 1 de cada 813 hombres y 1 de cada 259 mujeres, nuestros resultados preliminares en 46 casos concuerdan con estas estadísticas, ya que todos los individuos presentaron alelos normales; sugiriendo que no hay una asociación entre la premutación del *fmr-1* y MDD. El tamaño de muestra fue una limitación grande, y aunque se tenían más casos disponibles para genotipificar su amplificación no fue posible, esto podría deberse a un



agente inhibidor de la PCR presente en las muestras con baja concentración de ADN, por lo cual se propone tomar nuevamente las muestras de los pacientes que continúen en la Clínica la Inmaculada, con el fin de realizar una nueva extracción y lograr la amplificación.

Estandarizar un método rápido y de bajo costo para la identificación de la premutación y mutación del *fmr-1* es un gran avance. Este método puede ser utilizado para el mismo estudio de casos pero con una muestra más grande, o incluso puede replantearse el estudio tomando solamente casos para MDD de familias con una historia clínica de x- frágil. El estudio de desórdenes asociados a x-frágil es de gran importancia, pues cambios en el *fmr-1* pueden afectar la producción de la proteína FMRP, la cual es un regulador importante de la plasticidad sináptica; por lo cual es posible que déficits en la proteína sean observados en individuos con la premutación y que en este caso esté relacionado con déficits cognitivos y problemas psiquiátricos que incluyen MDD. Adicionalmente, se presentan cambios a nivel del mRNA que posiblemente hacen al individuo vulnerable al ambiente, esto debido al estrés oxidativo generado por las altas concentraciones de mRNA; siendo importante el estudio del impacto ambiental a MDD cuando se presenta la premutación (Summer y Hagerman); y de este modo evaluar no solo si se da una asociación entre la premutación y MDD, si no también si existe una interacción premutación\*ambiente.

En conclusión, este es el primer estudio clínico para MDD en Colombia que evalúa el riesgo genético de la variante 5-HTTVNR y la premutación del gen *fmr-1*. Hasta el momento no se encontró una asociación de la premutación del gen *fmr-1* en individuos con MDD sin embargo se propone aumentar el tamaño de muestra y continuar del estudio en un futuro. Si se identificó una asociación de la variante 5-HTTVNTR del gen SLC6A4 en individuos diagnosticados con MDD proponiéndose que el alelo 10 actúa como un alelo protector al encontrarse con mayor frecuencias en el grupo control, el cual presento también con mayor frecuencia los genotipos 10|10 y 10|12. Al evaluar los esquemas psicológicos de pacientes y controles se encontró una asociación entre presentar abuso sexual y MDD, adicionalmente a mayor número de eventos estresores negativos, la probabilidad de presentar MDD es mayor. Finalmente no se encontró interacción gen\*ambiente en el desarrollo de MDD, teniendo en

cuenta el genotipo la variante 5-HTTVNTR y la ocurrencia o ausencia de estresores menores, abuso sexual, y, maltrato.

## Referencias

- Al., A. C. e. (2003). "Influence of Life Stress on Depression: Moderation by a polymorphism in 5HTT gene." SCIENCE 301(386): 386-389.
- Ammar Al-Chalabi, Laura Almasy. "Genetics of Complex diseases." Cold Spring Harbor Cap.4.
- Barnes, L., Harp, D., & Sik, W. (2002). Reliability Generalization of Scores on the Spielberger State-Trait Anxiety Inventory. *Educational and Psychological Measurement* , (62) 603-618.
- Bassell, G.J; Warren, S.T. (2008). Fragile X syndrome: Loss of local mRNA regulation alters synaptic development and function. Review. *Neuron*.
- Basuta, K; Lozano, R; Schneider, A; Yrigollens, C.M; Hessler, D; Hagerman, R.J; Tassone, F. (2014). A family with two female siblings with compound heterozygous FMR1 permutation alleles. Short Report. Clinical genetics 85: págs. 458–463.
- Brezo, J., Bureau, A., Merette, C., Jomphe, V., Barker, E.D., Vitaro, F., Hebert, M., Car-bonneau, R., Tremblay, R.E., Turecki, G., 2010. Differences and similarities in the serotonergic diathesis for suicide attempts and mood disorders: a 22-year longitudinal gene–environment study. *Molecular Psychiatry* 15, 831–843.
- Bonvicini, C; Scassellati, C; Bortolomasi, M; Segala, M; Sartori, R & Gennarelli, M. (2010). "Serotonin transporter gene polymorphisms and treatment-resistant depression." Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 34: 934-939.
- Bourgeois, J; Coffey, S; Rivera, S.M; Hessler, D; Gane, L.W; Tassone, F; Greco, C; Finucane, B; Nelson, L; Berry-Kravis, E; Hagerman, P.J; Hagerman, R.J.(2009). Fragile X Premutation Disorders – Expanding the Psychiatric Perspective. *J Clin Psychiatry*. 2009 June; 70(6): 852–862.
- Bourgeois, J.A; Seritan, A.L; Casillas, E.M; Hessler, D; Schneider, A; Yang, Y; Kaur, I; Cogswell, J.B; Nguyen, D.V; Hagerman, R.J.(2011). Lifetime prevalence of mood and anxiety disorders in fragile X permutation carriers. *J Clin Psychiatry*. 72(2): 175–182.
- Brouwer JR, Severijnen E, de Jong FH, et al. Altered hypothalamus-pituitary-adrenal gland axis regulation in the expanded CGG-repeat mouse model for fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 2008; 33:863–873. [PubMed: 18472227]
- Brown, G.W; Harris, T.O. (2008). Depression and the serotonin transporter 5-HTTLPR polymorphism: A review and a hypothesis concerning gene–environment interaction. *Journal of affective disorders*, Vol. 111, Issue 1, Pp 1- 12.
- Brown, S.S.G; Stanfield, A.C. (2015). Fragile X permutation carriers: A systematic review of neuroimaging findings. *Journal of the Neurological Sciences* 352, 19–28.
- Bukh, J.D., Bock, C., Vinberg, M., Werge, T., Gether, U., Vedel Kessing, L., 2009. Inter-action between genetic polymorphisms and stressful life events in first episode depression. *Journal of Affective Disorders* 119, 107–115.
- Carli, L. M., L. Zaninotto, A. Roy , L. Recchia , L. Stoppia , V. Gatta , and A. S. M. Sarchiapone (2011). "A protective genetic variant for adverse environments? The role of childhood traumas and serotonin transporter gene on resilience and depressive severity in a high-risk population." European psychiatry 26: 471-478.
- Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T., Taylor, A., Craig, I., Harrington, H., et al. (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene . *Science*, (301), 386-389.

- Caycedo, M.L. & Jiménez, K (2005). Estudio descriptivo-exploratorio del trastorno depresivo mayor: aproximaciones psicológicas y sociodemográficas de pacientes hospitalizados en la Clínica Psiquiátrica Nuestra Señora de la Paz. *Revista Colombiana de Psiquiatría*, 34 (4).
- Chiauuzzi V.A, Ferder I, Alba L, Belli S, Escobar M.E, Charreau E.H, Dain L. (2010). Studies of the 5' - UTRTR region in the FMR-1 gene in patients with the Premature Ovarian Failure. *Rev. argent. endocrinol. metab.* vol.47 no.4 Ciudad Autónoma de Buenos Aires oct./dic. 2010.
- Chonchaiya W, Nguyen DV, Au J, *et al.*( 2010) Clinical involvement in daughters of men with fragile X-associated tremor ataxia syndrome. *Clin Genet*; 78: 38-46.
- Cloninger, C.R. (1987). Neurogenetic adaptive mechanisms in alcoholism. *Science* 236, 410–416.
- Coffey SM, Cook K, Tartaglia N, *et al.* (2008) Expanded clinical phenotype of women with the FMR1 premutation. *Am J MedGenet*; 146: 1009-16.
- Darnell JC, Van Driesche SJ, Zhang C, *et al.* (2011). FMRP stalls ribosomal translocation on mRNAs linked to synaptic function and autism. *Cell*.146 (2):247–261.
- Drachmann Bukh, J; Bock, C; Vinberg, M; Werge, T; Gether, U; Kessing, L.V. (2009). Interaction between genetic polymorphisms and stressful life events in first episode depression. *Journal of Affective Disorders* 119, 107–115.
- Dwivedi, Y. (2009). Brain-derived neurotrophic factor: role in depression and suicide. *Neuropsychiatry Dis Treat.* Vol. 5: 433–449.
- Eley, K. S., A Corsico, AM Gregory, P Sham, P McGuffin, R Plomin and IW Craig (2004). "Gene–environment interaction analysis of serotonin system markers with adolescent depression." *Molecular Psychiatry* 9: 908-915.
- Fatemi, S.H., Kneeland, R.E., Liesch, S.B., Folsom, T.D., 2010. Fragile X mental retardation protein levels are decreased in major psychiatric disorders. *Schizophrenia. Res.* 124, 246e247.
- Fatemi, S.H; Folsom, T.D. (2011). The role of fragile X mental retardation protein in major mental disorders. *Neuropharmacology* 60, 1221-1226.
- Ferrado, L., Bobes, J., & Gilbert, J. (2000). *Mini International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I) Versión en Español* . Madrid.
- Figura 1.
- Figura 2. Adaptada de:
- Goodson, Martin, Rust, MarcoB. Witke, Walter. (2012) .Cofilin-1: a modulator of anxiety in mice. *PLoSGenet*.8 (10), e1002970.
- Gotlib, I.H; Joormann, J. (2010). Cognition and depression: current status and future. *Annu Rev Clin Psychol*.
- Haenisch, B; Bönish, H. (2011). “Depression and antidepressants: insights from knockout of dopamine, serotonin or noradrenaline reuptake transporters” *Pharmacology and therapeutics* 129: 352-368.
- Hagerman RJ, Leavitt BR, Farzin F, *et al.*( 2004) Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) in females with the *FMRI* premutation. *Am J Hum Genet*; 74: 1051-6.
- Hamet, P. J. T. (2005). "Genetics and genomics of depression." *Metabolism, clinical and experimental* 54(1): 10-15.
- Hammen, C. (2005). “Stress and depression.” *Annual Review of Clinical Psychology, University of California* 1: 293-319.
- Harkness, K.L; Bruce, A.E; Lumley, M.N. (2006). “The role of childhood abuse and neglect in the sensitization to stressful life events in adolescent depression.” *Journal of abnormal psychology* 115(4): 730-741.
- Hashimoto R, Javan AK, Tassone F, Hagerman RJ, Rivera SM. (2011). A voxel based morphometry study of grey matter loss in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Brain*;134:863–78.

- Heather A. Kenna, Molly Tartter, Scott S. Hall, Amy A. Lightbody, Quynh Nguyen, C. Paula de los Angeles, Allan L. Reiss, and Natalie L. Rasgon. 2013. "High Rates of Comorbid Depressive and Anxiety Disorders Among Women with Premutation of the FMR1 Gene". *American Journal of Medical Genetics, Neuropsychiatric genetics* 162B:872–878.
- Hessler D, Tassone F, Loesch DZ, et al. Abnormal elevation of FMR1 mRNA is associated with psychological symptoms in individuals with the fragile X premutation. *Am J Med Genet B. Neuropsychiatr Genet* 2005;139:115–121. [PubMed: 16184602]
- Hepler, J. R., y Gilman, A.G. (1992). "G proteins". *Trends in Biochemical Sciences*, vol. 17: pp 383-387.
- 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*, 12:7.
- Hunter JE, Allen EG, Abramowitz A, Rusin M, Leslie M, Novak G, and Sherman SL. (2008). Investigation of phenotypes associated with mood and anxiety among male and female fragile X premutation carriers. *Behav Genet* 38:493–502.
- Hunter, J.E; Rohr, J.K; Sherman, S.L. (2010). "Co-occurring diagnoses among FMR1 premutation allele carriers". *Clinical genetics* 77: 374-381.
- Jae-Min Kim, R. S., Sung-Wan Kim, Su-Jin Yang, Il-Seon Shin, Young-Hoon Kim, and Jin-Sang Yoon (2007). "Interactions between Life Stressors and Susceptibility Genes (5-HTTLPR and BDNF) on Depression in Korean Elders." *BIOL PSYCHIATRY* 62: 423-428.
- Jokela, M., Lehtimäki, T., Keltikangas-Järvinen, L., 2007a. The influence of urban/rural residency on depressive symptoms is moderated by the serotonin receptor 2A gene. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 144, 918–922.
- Kendler KS, Thornton LM, Gardner CO: Stressful life events and previous episodes in the etiology of major depression in women: an evaluation of the "kindling" hypothesis. *Am J Psychiatry* 2000; 157:1243–1251.
- Kendler KS, Gardner CO, Prescott CA: Toward a comprehensive developmental model for major depression in women. *Am J Psychiatry* 2002; 159:1133–1145.
- Kessler RC, Magee WJ: Childhood adversities and adult depression: basic patterns of association in a US national survey. *Psychol Med* 1993; 23: 679–690.
- Koukoui, S.D; Chaudhuri, A. (2007). Neuroanatomical, molecular genetic, and behavioral correlates of fragile X syndrome. *Brain research reviews* 53: págs. 27 -38.
- Johnston C, Eliez S, Dyer-Friedman J, et al. Neurobehavioral phenotype in carriers of the fragile X premutation. *Am J Med Genet* 2001;103:314–319. [PubMed: 11746012].
- Lacerda-Pinheiro, A.F; Fontenelle Pinheiro Junior, R.F; Pereira de Lima, M.A; Lima da Silva, C.G; Vieira dos Santos, M.S; Teixeira junior, A.G; Lima de Oliveira, P.N; Barros Ribeiro, K.D; Rolim-Neto, M.L; Vieira Bianco, B, A. (2014). Are there depression and anxiety genetic markers and mutations? A systematic review. *Journal of Affective Disorders* 168, 387–398.
- Lee, T-W; Yu, Y.W.Y; Hong, C-J; Tsai, S-J; Wu, H-C; Chen, J. (2011). The influence of serotonin transporter polymorphisms on cortical activity: A resting EEG study. *BMC Neuroscience*; 12: 33.
- Leehey MA, Legg W, Tassone F, Hagerman RJ. (2011) Fibromyalgia in fragile X mental retardation 1 gene premutation carriers. *Rheumatology*; 50: 2233-6.
- Lesch, K-P; Bengel, D; Heils, A; Sabol, S.Z; Greenberg, B.D; Petri, S; Benjamin, J; Müller, C.R; Hamer, D.H; Murphy, D. (1969). Association of Anxiety-Related Traits with a Polymorphism in the Serotonin Transporter Gene Regulatory Region. *Science*, Vol. 274 no. 5292 pp. 1527-1531
- Levinson, D. F. (2006). "The Genetics of Depression: A Review." *BIOL PSYCHIATRY* 60: 84-92. Saiz et al. 2008

- Li Y, Jin P. (2012) RNA-mediated neurodegeneration in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Brain Res*; 1462:112–7.
- Londoño, N., Schnitter, M., Marín, C., Calvete, E., Ferrer, A., Maestre, K., y otros. (2012). Young Schema Questionnaire Form: Validación en Colombia . *Universitas Psychologica* , (11) 147-164.
- Lopez de Lara, C; Dumais, A; Rouleau, G; Lesage, A; Dumont, M; Chawky, N; Alda, M; Benkelfat, C; Turecki, G. (2005). “STin2 variant and family history of suicide as significant predictors of suicide completion in major depression”. *Biol-psychiatry* 59: 114-120.
- Liu, R.T; Alloy, L.B. (2010). “Stress generation in depression: A systematic review of empirical literature and recommendations for future study.” *Clinical Physiology review* 30: 282-293.
- Lush, J.L. (1940). “Intra-sire correlations or regressions of offspring on Dam as method of estimating heritability of characteristics.” *Journal of animal science* 1940: 293-301.
- Mandelli, L; Seretti, A. (2012). Gene environment interaction studies in depression and suicidal behavior: An update. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 37 ( 2375–2397).
- Munafò, M.R-, Glyn Lewis, C.D; and Flint, J (2008). "Gene-Environment. Interactions at the Serotonin Transporter Locus." *BIOL PSYCHIATRY* 65: 211-219.
- Nestler, E.J, Barrot, M; DiLeone, R.J; Eisch, A.J; Gold, S.J; Monteggia, L.M. (2002). “Neurobiology of Depression”. *Neuron* 34: 13-25.
- Obadia, R.W; Losif, A.M; Seritan, A.L. (2013). Postpartum Depression in Women with the *FMR1* Premutation. *Curr Psychiatry Rev.* 9(1): 72–77
- OMS, 2015. Depression. Mental Health. Recuperada el 24 de Enero del 2015 de <http://www.who.int/topics/depression/es/>
- Oostra, B.A., Willemsen, R.,(2009). FMR1: a gene with three faces. *Biochem. Biophys.Acta* 1790, 467e477.
- Perea, C.S; Gomez, Y; Lattig, M.C. (2012). "Negative affectivity moderated by BDNF and stress response." *Journal of Affective Disorders* 136: 767–774.
- Risch, N., Herrell, R., Lehner, T., Liang, K.-Y., Eaves, L., Hoh, J., Griem, A., Merikan-gas, K.R., 2009. Interaction between the serotonin transporter gene (5-HTTLPR) stressful life events, and risk of depression: a meta-analysis. *JAMA – Journal of the American Medical Association* 301, 2462–2471.
- Rodriguez-Revenge L, Madrigal I, Pagonabarraga J, *et al.* (2009) Penetrance of *FMR1* premutation associated pathologies in fragile X syndrome families. *Eur J Hum Genet*; 17: 1359-62.
- Roberts, J.E; Bailey Jr., D.B; Mankowski, J; Ford, A; Sideris, J; Weisenfeld, L.A; Heath, T.M and Golden, R.N.(2008). “Mood and Anxiety Disorders in Females with the FMR1 Premutation”. *American Journal of medical genetics, Neuropsychiatric Genetics* 150B: 130-139.
- Sandin, B. (1995). El estrés. En: Belloch, A., Sandín, B., y Ramos, F. (Eds.), *Manual de Psicopatología* (Vol. 2). Madrid: McGraw-Hill.
- Saiz, P.A; Morales, B; García-Portilla, M.P; Bascarán, M.T; Coto, E; Álvarez, V; Fernández, J.M; Bousoño, M; Bobes, J. (2008). “Polimorfismos serotoninérgicos y trastorno obsesivo- compulsivo.” *Psiquiatría biológica* 8(6): 219-224.
- Sarosi, A; Gonda, X; Balogh, G; Domotor, E; Szekely, A; Hejjas, K; Sasvari-Szekely, M; Faludi, G. (2008). “Association of the STin2 polymorphism of the serotonin transporter gene with a neurocognitive endophenotype in major depressive disorder.” *Progress in Neuro-Psychopharmacology and biological psychiatry* 32: 1667-1672
- Sellier C, Freyermuth F, Tabet R, et al.(2013) Sequestration of DROSHA and DGCR8 by expanded CGG RNA repeats alters microRNA processing in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Cell Rep.* 3(3):869–880.

- Seltzer MM, Barker ET, Greenberg JS, Hong J, Coe C, Almeida D. Differential sensitivity to life stress in FMR1 premutation carrier mothers of children with fragile X syndrome. *Health Psychol.* 2011 Dec 12. [Epub ahead of print].
- Seritan, A.L; Bourgeois, J.A; Schneider, A; Mus, Y; Hagerman, R.J & Nguyens, D.V. (2013). Ages of Onset of Mood and Anxiety Disorders in Fragile X Premutation Carriers. *Current Psychiatry Reviews*, 9, 65-71.
- Sheehan, D., Lecrubier, Y., Sheehan, H., Amorim, P., Janavs, J., Weiller, E., y otros. (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* , 22-33.
- Sobesky WE, Pennington BF, Porter D, et al. Emotional and neurocognitive deficits in fragile X. *Am J Med Gen.* 1994; 51:378–385.
- Sotelo, L., Sotelo, N., Dominguez, S., Poma, I., Cueto, E., Alarcón, D., y otros. (2012). Propiedades Psicométricas del inventario de depresión estado rasgo (IDER) en adultos de Lima. *Avances en Psicología*, (20)59-68.
- Summer & Hagerman. I. Developmental Disorders. Chapter 8: Fragile X- Associated disorders. California, United States.
- Vandenberg, D.J.,Persico,A.M.,Hawkins,A.L.,Griffin, C.A.,Li,X.,Jabs,E.W.,etal., (1992) .Human dopamine transporter gene(DAT1)mapsto chromosome5p15.3 and displays a VNTR. *Genomics*14,1104–1106.
- Vasquéz, C., y Sáenz, J. (1995). Trastornos del estado de ánimo: aspectos clínicos. En A. Belloch, B. Sandín & F. Ramos (Eds.), Manual de Psicopatología (Vol. 2), (pg. 299-337). Madrid: McGraw-Hill.
- Vendruscolo, LF, Terenina-Rigaldie, E, Raba, F, et al. (2006). Evidence for a female- specific effect of a chromosome 4 locus on anxiety-related behaviors and ethanol drinking in rats. *Genes Brain Behav.*5(6),441–450.
- Veyita, M., González, N., Andrade, P., & Oudhof, H. (2012). Depresión en adolescentes: El papel de los sucesos vitales estresantes. *Salud Mental*, (35) 37-43 .
- Wheeler, A.C; Bailey Jr, D.B, Berry-Kravis, E; Greenbergs; J; Losh, M; Mailicks, M; Milà, M; Olichney, J.M; Rodriguez-Revenga, L; Sherman, S; Smith, L; Summers, S; Yang, J-C; Hagerman, R.J.(2014). Associated features in females with an FMR1 premutation. *Journal of Neurodevelopmental Disorders* 6:30
- Willner, P; Scheel-Krüger, J; Belzung, C. (2013). The neurobiology of depression and antidepressant action. *Neuroscience & biobehavioral reviews*, [Vol. 37, Issue 10, Part 1](#), Pg. 2331–2371.
- Xu, Y., Li, F., Huang, X., Sun, N., Zhang, F., Liu, P., Yang, H., Luo, J., Sun, Y., Zhang, K., 2009. The norepinephrine transporter gene modulates the relationship between urban/rural residency and major depressive disorder in a Chinese population. *Psychiatry Research* 168, 213–217.