

## TESIS II: Maestría en Ciencias Biológicas – Énfasis Biología

---

### INFORMACION GENERAL

<b>Directora de Tesis</b>	PhD. María Claudia Lattig Matiz Profesora asociada Centro de Investigaciones Genéticas en Enfermedades Humanas (CIGEn)
<b>Codirectora</b>	<b>PhD. Yvonne Gómez Maquet</b> Profesora asociada Departamento de Psicología
<b>Estudiante</b>	Alejandra María Gaviria Manrique Cód. 200923772

### **La variante Val66Met y la región polimórfica 5-HTTLPR no interactúan con los eventos estresores recientes o tempranos en el desarrollo del Trastorno Depresivo Mayor en una población clínica de Colombia**

#### Resumen

El Trastorno Depresivo Mayor (TDM) es una enfermedad multifactorial que afecta la morbilidad, la mortalidad y la calidad de vida de las personas que lo presentan. Se ha demostrado que la heredabilidad de esta enfermedad oscila entre el 30 y 40% indicando un importante factor de riesgo genético y ambiental. Estudios previos muestran una interacción importante entre los polimorfismos Val66Met localizado en el gen BDNF y la región 5-HTTLPR del Recaptador de Serotonina con eventos estresores recientes o durante el desarrollo temprano en personas con TDM. En este trabajo, se realizó un estudio de Caso-Control retrospectivo en población clínica con este trastorno. Para ello, se realizó un primer diagnóstico mediante la entrevista MINI altamente estructurada para el diagnóstico de trastornos depresivos y ansiosos. Posteriormente se evaluó la presencia de eventos estresores durante la infancia o adolescencia así como durante el periodo previo al episodio y se generó un diagrama cognitivo de los pacientes mediante las pruebas IDER y STAI. La genotipificación del polimorfismo Val66Met se realizó mediante qPCR con sondas taqman, mientras que la evaluación del número de repeticiones en la región 5-HTTLPR se hizo con un procedimiento de PCR convencional y separación en un gel de agarosa. Este trabajo mostró una fuerte relación entre el TDM y factores ambientales como lo son el maltrato (valor- $P=6,62e-5$ ) y abuso sexual (valor- $P=4.24e-4$ ) durante el desarrollo temprano y el nivel de estrés previo al episodio (valor- $P=0.031$ ). Las variantes genéticas no mostraron una relación significativa con el trastorno. Tampoco fue posible demostrar una interacción Gen x Ambiente significativa en el desarrollo del trastorno. Este estudio muestra que los eventos ambientales se constituyen como un factor de riesgo importante en el TDM aun así la evidencia presentada indica que las variables estudiadas no presentan un efecto importante en el desorden en la población de estudio lo cual resulta controversial frente a los resultados obtenidos en estudios previos.

## Introducción

### *Trastorno Depresivo Mayor*

La Depresión se constituye como una serie de trastornos emocionales de etiología compleja, caracterizados por patrones psicosociales que dificultan la interacción de las personas con su entorno. Las personas que sufren de depresión experimentan una profunda tristeza o decaimiento anímico que suele estar acompañado de síntomas como variaciones en el desempeño psicomotor, cambios en los patrones de sueño y hábitos alimenticios, disminución en la concentración, una interacción social disminuida, sentimientos de culpa y baja autoestima, y pensamientos de suicidio son características comunes en estos individuos. De acuerdo con los criterios del DSM-V, dentro de estos trastornos, el Trastorno Depresivo Mayor (TDM) se destaca debido a la presencia continua de este ánimo depresivo o pérdida de interés en actividades placenteras que ocurre simultáneamente a cinco de los síntomas mencionados, durante un periodo de al menos dos semanas consecutivas sin experimentar periodos de felicidad (Roy et al., 2014).

En este trastorno se presenta un fuerte componente de afectividad negativa que da lugar a muchos de los síntomas manifestados por los pacientes. Esta afectividad negativa se entiende como la tendencia a preocuparse o tener una visión pesimista de la vida, lo cual hace a las personas más propensas a experimentar un mayor número de emociones negativas que persisten en el tiempo. Por lo anterior, pueden hacerse incapaces de afrontar eventos estresores y retos en la vida diaria, llegando a desarrollar este trastorno. En este aspecto se relacionan los trastornos depresivos y ansiosos, teniendo en cuenta que la afectividad negativa en el primero viene acompañada de un descenso en la emocionalidad positiva por lo que se mantiene una sensación de daño irreparable en el individuo, mientras que a nivel de la ansiedad suele darse una elevación de las respuestas fisiológicas que puede llegar a ser disfuncional. Debido a esto, se habla de una fuerte comorbilidad entre ambos tipos de trastorno que pueden dar lugar a un deterioro en el nivel de vida que es importante considerar al hablar de estos trastornos (Joiner et al,1996).

Se ha visto que el TDM afecta directamente el funcionamiento diario y la calidad de vida de los pacientes generando un nivel de deterioro más severo que el causado por enfermedades como la hipertensión, la diabetes y la artritis (Lin, et al., 2014; Hall-Ramirez, 2004). Esto se debe a que afecta al individuo en diferentes aspectos de su vida diaria. La mayoría de personas que presentan este trastorno tienen incompatibilidades sociales y dificultades para establecer o mantener una relación cercana con las personas en su entorno. Del mismo modo, los trastornos depresivos están asociados a un trabajo poco productivo y a un entorno familiar conflictivo, dando lugar a un aumento en problemas de conducta y bajos niveles de convivencia social y autoestima (Hall-Ramírez, 2004). Adicionalmente afecta la mortalidad de los individuos pues uno de los síntomas más comunes incluye la ideación suicida (presentada por el 60 a 70% de los pacientes) que termina por volverse realidad en cerca del 15% de los pacientes (Sokero, et al, 2003).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud este trastorno no solo es uno de los desórdenes mentales más comunes sino que es la principal causa de discapacidad entre los

trastornos mentales y del comportamiento. Se considera que ya es la segunda causa de pérdidas de días laborales afectando cerca de 120 millones de personas en el mundo especialmente mujeres (Ferrari, 2013). En Colombia se han reportado prevalencias cada vez mayores (tabla 1), que recalcan la necesidad de entender los mecanismos por los cuales ocurre este trastorno para su adecuado manejo.

**Tabla 1.** Porcentaje (%) de prevalencia de Trastornos Depresivo Mayor en adultos de la población Colombiana

Estudio	Prevalencia en la vida	Prevalencia últimos 12 meses	Prevalencia último mes	Trastorno estudiado
<b>Gómez-Restrepo, et al., 2004</b>	ND	10	8,5	Depresión general y Recurrente
<b>Bromet et al, 2011</b>	13,3	6,2	ND	TDM
<b>Kessler et al, 2010</b>	11,8	5,3	ND	TDM
<b>Rueda-Sánchez et al, 2008</b>	11,2	ND	ND	TDM
<b>Ministerio de Salud, 2015</b>	12 (hombres) 19,3 (mujeres)	ND	ND	TDM (en personas entre 18-44 años)
<b>Ministerio de Salud, 201</b>	14,9 (hombres) 22,2 (mujeres)	ND	ND	TDM (personas con más de 45 años)

#### *Influencia de los Factores ambientales sobre la depresión*

La Depresión es una enfermedad multifactorial dentro de la cual los factores ambientales juegan un papel muy importante. El estrés psicológico experimentado previo al episodio tiene una influencia considerable en el desarrollo de la misma (Brown, et al., 1978), y la severidad de sus síntomas (Uher y McGuffin, 2008). Este estrés se define entonces como la percepción del individuo acerca de su incapacidad para afrontar un reto o problemas de diferente índole (Roy et al., 2014). Diversos autores abarcan las adversidades en etapas adultas inquiriendo acerca de los eventos más comunes capaces de generar este estrés, entre ellos: problemas en el trabajo o financieros (despidos, deudas, malas relaciones con compañeros o jefes), problemas de vivienda (no tener hogar o mudarse repetidamente), problemas de salud o problemas en las relaciones personales (Caspi et al, 2003; Roy et al., 2014).

En la mayoría de los pacientes la depresión suele ser desencadenada por estos estresores de la vida diaria o sucesos vitales tensionantes que dan lugar a sentimientos de tristeza, irritabilidad y duelo. No obstante, en algunas ocasiones estos sentimientos no desaparecen cuando la causa se disipa y con frecuencia se observa que no presentan una causa definida o son desproporcionados a la misma (Belmarker y Agam, 2008). Es por ello que se llega a pensar que eventos estresores en otras etapas de la vida, especialmente en la infancia y adolescencia, pueden contribuir a la aparición de episodios del TDM. Diversos estudios muestran evidencia que favorece esta hipótesis:

por ejemplo, la prevalencia de trauma en la infancia se ha visto implicada en la cronicidad de la depresión (Wiersma et al, 2009). Así mismo, la adversidad temprana vista desde diferentes eventos de impacto en los niños se reporta con mayor frecuencia en pacientes con depresión respecto individuos sanos (Fisher, et al., 2013). Estos eventos enmarcan el abuso (sexual y físico), la negligencia, eventos impactantes (ej. divorcio de los padres o muerte de los mismos). Se cree que cuando estos ocurren, pueden tener efectos a largo plazo en el desarrollo del cerebro; especialmente en los sistemas neurales y endocrinos que tienen un efecto mediador sobre la respuesta al estrés (Gillespie y Nemeroff, 2005).

### *Influencia de los factores biológicos sobre la depresión*

La evidencia presentada anteriormente permite concluir que la depresión está fuertemente asociada al ambiente y las experiencias personales. Aun así, no todas las personas que se encuentran con los mismos eventos estresores sucumben a efectos depresogénicos (Caspi, et al., 2003). En base a esto, se propone una predisposición biológica para la ocurrencia de esta enfermedad basada en la relevancia que puede tener la herencia en este desorden. Esto se propone a partir de la hipótesis de Diátesis- Estrés, que sugiere que la presencia de diversos polimorfismos supone un factor de riesgo que se sumará al estrés en el desarrollo del TDM. Teniendo en cuenta esta premisa, los estudios de concordancia en gemelos han mostrado una heredabilidad entre el 30 a 40%, proporción del genotipo que está explicada por los factores genéticos (Sullivan, et al., 2000).

Teniendo en cuenta esta heredabilidad se ha estudiado el contexto genético de los individuos para determinar cuáles genes o genotipos podrían ser considerados como posibles factores de riesgo biológico para el trastorno. Varios polimorfismos han sido asociados con la severidad o frecuencia del desorden y se considera que estos cambios en la secuencia de ADN pueden interactuar con eventos estresores recientes y en la vida temprana (Caspi, et al., 2003; Kendler, et al., 2005; Karg, et al., 2011). Dentro estos factores de riesgo genético destacan dos variantes en la ruta serotoninérgica y la ruta neurotrófica: los alelos cortos y largos de la región polimórfica recaptador de serotonina y la sustitución Val66Met del Factor neurotrófico asociado al Cerebro.

### *Región polimórfica 5-HTTLPR del SL6CA4*

El gen SL6CA4 codifica para la proteína Recaptadora de Serotonina (SERT) la cual regula la magnitud y alcance de las respuestas neuronales y fisiológicas a la serotonina. Esto se debe a que captura el neurotransmisor en la hendidura sináptica regulando procesos fisiológicos y comportamentales, incluyendo emocionalidad, sueño, locomoción, percepción, cognición, agresión, conducta sexual y apetito. Dentro de este gen existe una región polimórfica conocida como 5-HTTLPR con dos alelos, largo (L) y corto (s) que implican o no una inserción de 44bp en la región promotora (Moya, 2013; Caspi et al, 2003). Los alelos de la región 5-HTTLPR tienen distintas eficiencias transcripcionales, donde el alelo corto produce una expresión funcional menor de SCL6A4, y por ende reduce la recaptación de serotonina (Sharpley, et al., 2014). Lesch y colaboradores (1996) reportaron que la eficiencia reducida se veía en la disminución de la

concentración de ARNm entre 1,4 y 1,7 veces en genotipos homocigotos para el alelo corto o heterocigotos. Así mismo encontraron que este polimorfismo estaba asociado a la Neurosis el cual se compone de factores asociados a la depresión y ansiedad.

A pesar de lo anterior, fue solo hasta el 2003 que se encontró evidencia contundente del efecto moderador del polimorfismo en la depresión. El grupo de Caspi en su estudio de una cohorte, mostró que los portadores del alelo corto presentan mayores síntomas depresivos, mayor tasa de depresión diagnosticable, y más probabilidad de suicidio en función de la exposición a eventos estresores. Diversos estudios han replicado estos resultados (Kim et al, 2007; Zalsman, 2006; Karg, 2011) mientras otros se han centrado en la funcionalidad del polimorfismo y el mecanismo de acción en este desorden. Se ha visto que la expresión reducida en los portadores del alelo corto se correlaciona con una reducción del volumen de la materia gris en regiones límbicas responsables del procesamiento de emociones negativas entre ellas cingulada perigenual y la amígdala (Pezawas et al, 2005). Así mismo, se ha notado que la reactividad biológica al estrés puede ser un mecanismo fundamental que explica la asociación encontrada para este polimorfismo, esto puede estar asociado a la actividad del eje HPA y la retroalimentación negativa ejercida por la serotonina sobre los niveles de cortisol (Gotlib et al, 2008). Con el paso de los años, la evidencia de asociación del polimorfismo a la depresión y los posibles mecanismos propuestos para esta regulación de la respuesta al estrés, este alelo es conocido como uno de los marcadores de depresión más importantes (Sharpley, et al., 2014) y su frecuencia varía entre el 40 al 70% según las poblaciones (Tabla 2).

**Tabla 2.** Porcentaje (%) de la frecuencia alélica y genotípica para las variantes corta y larga de la región polimórfica del recaptador de serotonina

Estudio	Frecuencia alélica S	s/s	s/L	L/L	Población
<b>Lesch et al, 1996</b>	43	19	49	32	Población caucásica
<b>Hankin, et al., 2011</b>	49	33	45	22	Mountain West, EU
<b>Haberstick et al, 2015</b>	42,6	32,5	49	18,4	Población Caucásica, EU
<b>Haberstick et al, 2015</b>	26,5	55,8	36,3	7,9	Población Afroamericana, EU
<b>Haberstick et al, 2015</b>	67,7	13,8	41,7	44,5	Población Asiática, EU
<b>Kauffman et al, 2006</b>	39,5	39	43	18	Afro-americanos, euro-americanos e hispanos
<b>Ospina-Duque et al, 2000</b>	53	20	54	26	Antioquia, Colombia
<b>Perea et al, 2012</b>	55	29,5	50,3	20,2	Colombia
<b>Escobar et al, 2011</b>	56	18,7	50,8	30,5	Caldas, Colombia

#### *Polimorfismo Val66Met del BDNF*

El Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro [BDNF (Gene ID: 6265)], es una proteína necesaria para el desarrollo normal, la supervivencia y la plasticidad de las neuronas, la formación de sinapsis y el proceso de potenciación a largo plazo (Leibrock, et al., 1989; Lewin y Barde, 1996; Huang and Reichardt, 2001; Zakharenko et al., 2003). En 1995, el grupo de Smith notó que la

expresión de la misma en el cerebro estaba regulada por estrés. En base a esto, sugirieron un rol de la molécula en la depresión, y el desorden de estrés postraumático. Este efecto fue comprobado más tarde en el 2006, cuando se observó que la sobreexpresión de BDNF tenía efectos antidepresivos en ratones (Govindarajan et al., 2006). En este mismo año, Chen y colaboradores introdujeron la variante Val66Met en estado homocigoto en ratones, los cuales mostraron comportamientos ansiosos que no podían ser reprimidos por el antidepresivo fluoxentina. Esta variante corresponde a una sustitución de una valina a una metionina en el aminoácido 66, debido a la sustitución de guanina a adenina. Esta resulta en una variación en el predominio que afecta el tráfico y la secreción de BDNF dependiente de actividad (Chen, et al., 2004), ya que este no es liberado del aparato de Golgi hacia las glándulas secretorias (Egan, et al., 2003). La Val66Met ha sido diana de diversos estudios que asocian este gen a síntomas depresivos aunque los resultados alrededor de la misma son controversiales. En algunos estudios se sugiere que la variante Val es un factor de riesgo para estos trastornos (Duncan, et al., 2009; Cadwell, 2013), sin embargo otros estudios muestran que los niveles de BDNF reducidos debido al alelo Met podrían tener un impacto sobre comportamientos ansiosos (Chen et al, 2006;) y comportamientos asociados a síntomas depresivos (Taylor et al, 2007; Lee et al, 2013; Hosang, et al., 2014).

**Tabla 3** Frecuencias porcentuales (%) alélicas y fenotípicas para la variante Val66Met del BDNF

Estudio	Freq. de alelo Met	V/V	V/M	M/M	Población
<b>Petrychen et al, 2010</b>	0,55	ND	ND	ND	Africana
<b>Petrychen et al, 2010</b>	19,9	ND	ND	ND	Europea
<b>Petrychen et al, 2010</b>	43,6	ND	ND	ND	Asiática
<b>Pyvac et al, 2009</b>	46,3	23,4	45,9	23,4	Corea
<b>Pyvac et al, 2009</b>	19,6	64,2	32,4	3,4	Croacia
<b>Perea et al, 2012</b>	14	73,8	24,5	1,7	Colombia
<b>Forero et al, 2006</b>	11,9	78	20,2	1,8	Colombia

#### *Interacción de tres vías entre los genes y el ambiente*

Por otra parte, estos biomarcadores se han visto asociados a la hipótesis de Diátesis-Estrés, que propone que la sensibilidad de los individuos a estrés experimentado depende de su contexto genético. De este modo se afirma que cada persona muestra diferentes y únicos grados de vulnerabilidad o predisposición para desarrollar depresión frente a diversas situaciones debido a la interacción de genes y eventos estresores que posee (Nemadé et al, 2007). Los estudios a nivel genético de esta enfermedad han reunido pruebas convincentes de la influencia de un componente genético complejo. Sin embargo no solo asociar este componente es suficiente para explicar el TDM y es por ello que se vuelve relevante evaluar la relación entre el genotipo y el ambiente. En el 2003, el grupo de Caspi demostró que el alelo corto de la región 5-HTTLPR interactúa con los eventos estresores en el desarrollo de la depresión. Desde entonces este tipo de análisis se ha realizado para diversas poblaciones, sin embargo, son muy escasos en población latinoamericana. Dentro de nuestro conocimiento, solo el estudio realizado por nuestro grupo

(Perea et al. 2012) abarca los trastornos depresivos como un fenómeno dado por la interacción entre ambos aspectos en población Colombiana. Este trabajo identificó interacciones entre el alelo met del BDNF y el estrés experimentado durante la infancia involucrados en la afectividad negativa; endofenotipo de trastornos depresivos y ansiosos en estudiantes universitarios. Un metaanálisis posterior sugirió que el alelo met podría ser moderador de la relación entre el estrés experimentado en etapas adultas y la depresión (Hosang et al, 2014). También se ha visto que el BDNF interactúa con las rutas serotoninérgicas a nivel fisiológico, por ejemplo se ha comprobado que ratones heterocigotos para el Val66Met presentan daños en las neuronas serotoninérgicas centrales (Lyons et al., 1999) Adicionalmente, se ha visto una interacción importante entre el efecto acumulado de ambas variantes de riesgo (definidas como la presencia del alelo Met y el alelo s y el ambiente en la severidad de los síntomas de trastornos depresivos (Dalton et al, 2014). El presente proyecto continúa con esta línea de investigación, estudiando estos factores en población clínica respecto a un grupo control de individuos sin diagnóstico de TDM.

Este trabajo hace parte de un proyecto que se viene realizando mediante una colaboración entre el departamento de psicología (Yvonne Gomez) y el departamento de ciencias biológicas (Maria Claudia Lattig) de la Universidad de los Andes. Este último busca estudiar aspectos clínicos, genéticos y epigenéticos responsables del trastorno depresivo mayor. La investigación que aquí se presenta busca profundizar en el entendimiento de la interacción entre sucesos vitales y variables genéticas particulares como lo son el 5-HTTLPR (short y long) y el Val66Met en el desarrollo de la depresión, teniendo en cuenta las características individuales de los sujetos. Para este estudio, se ha hecho un especial enfoque en el diagnóstico del Trastorno Depresivo Mayor y en el apareamiento de los controles por características como sexo, edad y escolaridad, ya que se considera que ignorar estos aspectos puede ser la razón de las controversias existentes en el tema y la falta de evidencia contundente (Duncan, et al., 2009). Así mismo se han tenido en cuenta estresores recientes como tempranos con el objetivo de discernir entre la relevancia de cada uno en el desorden.

## **Materiales y Métodos**

### **Población de estudio**

El presente estudio fue avalado por el comité de ética de la Universidad de los Andes. Para el mismo se realizó una aproximación caso-control retrospectivo, donde participaron individuos no relacionados, con diagnóstico de trastorno depresivo mayor realizado por el equipo psiquiatra de la clínica la Inmaculada, Bogotá, D.C., Colombia e integrados de manera voluntaria. El diagnóstico se corroboró mediante la aplicación de la prueba MINI por psicólogos del equipo de trabajo, entrevista altamente estructurada para el diagnóstico de los principales trastornos psiquiátricos (Episodio depresivo mayor, Trastorno Distímico, Trastorno de Angustia, Riesgo de suicidio, Agorafobia, Fobia social y Trastorno de Ansiedad generalizada) (Galli-Silva et al., 2002). Además de esta prueba, los participantes completaron una serie de pruebas de diagnóstico psicológico y cuestionarios personales, bajo supervisión de psicólogos del equipo de trabajo de la Universidad de los Andes. Para el grupo control se buscaron personas de la población general, mayores de 18

años, sin diagnóstico de TDM. Durante la escogencia de este grupo control, se realizó un apareamiento con los individuos con el trastorno basándose en tres características: sexo, escolaridad y edad. Para esta última característica se acordó utilizar un intervalo de edad que no difiriera en más de diez años con la edad del paciente.

Todos los participantes firmaron un consentimiento informado y se les realizó un diagnóstico mediante la entrevista MINI, la cuál será implementada como criterio principal para la elección del grupo control, tomando como criterio de exclusión la presencia de alguno de los trastornos mencionados anteriormente. Además de esto, se aplicaron los siguientes cuestionarios: (1) Escala de sucesos vitales (ESV), que cuantifica el número de eventos estresores recientes y su percepción como eventos positivos y negativos, así como una puntuación en una escala de estrés (Sandín, 1987); (2) Inventario de depresión (IDER), que presenta propiedades psicométricas para el análisis del componente de afectividad negativa, midiendo los sentimientos recurrentes asociados con depresión (Agudelo, 2009); (3) STAI-A y B, el cual se enfoca principalmente en la detección y análisis de sentimientos frecuentes asociados al componente de afectividad negativa en la ansiedad (Spielberger et al., 1983); (4) BDI-II, que analiza pensamientos asociados a un estado depresivo (Beck et al., 1996).

#### **Toma de muestras y Extracción de ADN**

La extracción de ADN se realizó a partir de la separación de linfocitos de sangre total con el kit DNA 2000 (Corpogen) para el grupo de casos y una estrategia mixta de extracción partir de sangre, o de saliva por el kit PSP SalivaGene DNA (Invitex). Mediante Nanodrop se cuantificó la concentración de ADN y se realizaron las diluciones de 20 ng/uL.

#### **Genotipificación**

La genotipificación del polimorfismo Val66Met ([G/A] chromosome 11:27658369; rs6265) del BDNF se realizó por un procedimiento de PCR en tiempo real a través del sistema Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real time utilizando sondas taqman 20X (Applied Biosystems). Para este propósito se re-suspendió el 1uL de ADN húmedo en una mezcla de 12.5 uL, 8.25 uL y 1,25uL de TaqMan Genotyping MasterMix (Applied Biosystems), Agua y sondas TaqMan SNP Genotyping Assays, Human, SM para el SNP rs6265. Este ensayo implementa las sondas VIC y FAM para identificar los alelos correspondientes y la sonda ROX como línea base, como se muestra en la figura 1. Para cada ensayo se utilizaron dos controles positivos con lo el genotipo homocigoto para el alelo Val y heterocigoto; así mismo se implementaron dos controles negativos, el primero de ellos con Master Mix sin ADN, el cual permitió generar el umbral base para la detección del polimorfismo y un control de ADN en agua pura para detección de posible contaminación.



Secuencia de Val66Met del BDNF  
 TCCTCATCCAACAGCTCTTCTATCA[C/T]GTGTTCCGAAAGTGCAGCCAATGAT

[VIC/FAM]

Posibles Resultados

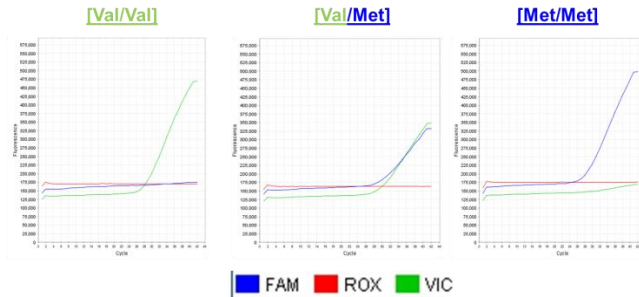


Figura 1 Secuencia diana y ejemplos de la genotipificación del polimorfismo Val66Met del BDNF mediante el uso de sondas TaqMan en un procedimiento de PCR en tiempo real

Por su parte la identificación de las variantes corta y larga del 5-HTTLPR se realizó por separación de los productos de PCR mostrada en la figura 2. Los primers implementados para su identificación fueron descritos por Gelernter y colaboradores (1997), los cuales presentan las siguientes secuencias: primer forward: 5'- ATGCCAGCACCTAACCCCTAATGT-3' y el reverse 5'- GGACCGCAAGGTGGGCGGGA-3. Para la reacción, se agregaron 2.5 uL de ADN en concentraciones de 20 ng/uL en una mezcla de 12.5 uL de GoTaq Green Master Mix 2X (Promega), 8.5 uL de Agua ultrapura y 0.8uL de cada uno de los primers 10X. El ciclo de PCR usado en su amplificación consiste en un paso de denaturación a 95°C por 30s, anillamiento a 63 °C por 30s, y extensión a 72 °C por 1 min por 35 ciclos seguidos por una extensión final a 72 °C por 3 minutos. El producto final fue separado por tamaño en un gel de agarosa al 3% visualizado por SYBR-Green. Este gel fue realizado de acuerdo al método descrito por Muhammad y colaboradores (2008) con una mezcla de 0,8g de Agarosa convencional y 0,4g de agarosa Metaphor (Lonza). Los amplificados se dejaron correr por 120 minutos junto a tres controles positivos correspondientes a los tres posibles genotipos y un control negativo constituido a la mezcla de PCR sin ADN.

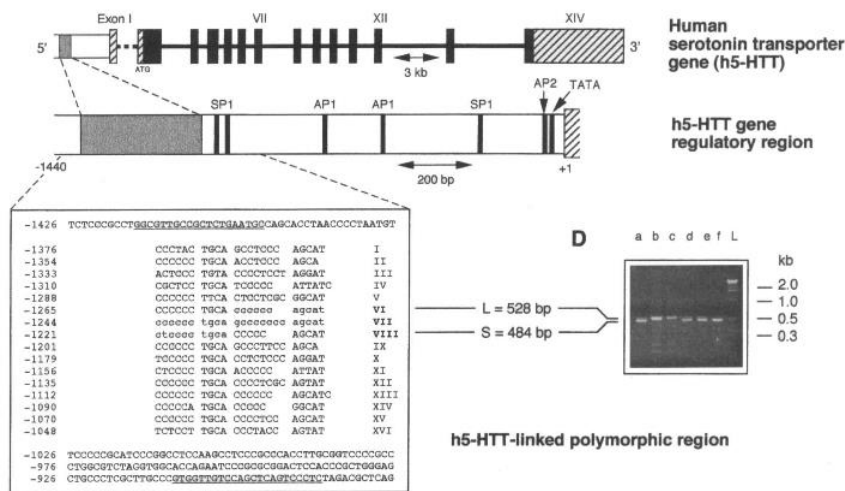


Figura 2 Variantes de la región polimórfica 5-HTTLPR del Recaptador de Serotonina. Figura tomada de Heils et al, 1996.

## Análisis de resultados

El software R i 386 2.15.2 se implementó para el análisis estadístico de los datos. En primer lugar se verificó que los genotipos seleccionados siguieran el equilibrio Hardy-Weinberg. Se realizaron análisis de contingencia con chi-cuadrado y modelos de regresión logística para analizar cada variable cualitativa y cuantitativa respectivamente. Adicionalmente el análisis de interacción se llevó a cabo mediante un modelo de regresión múltiple moderada incluyendo todas las variables ambientales y cada uno de los genes analizados. Finalmente se implementó un modelo lineal de una ANOVA para analizar el endofenotipo de depresión correspondiente a afectividad negativa con cada una de las variables. Los Valores P para los modelos individuales fueron corregidos mediante el método de bonferroni.

## Resultados

### Características poblacionales

Un total de 91 pacientes y 89 controles de la población de la ciudad de Bogotá fueron reclutados para el presente trabajo. Las características demográficas de estos individuos se pueden notar en la tabla 1.

**Tabla 4** Características demográficas de los Casos y Controles

	Casos	Controles
<b>Promedio de edad</b>	35,31	30,68
<b>Sexo</b>		
Femenino	65	64
Masculino	25	25

### Asociación del Genotipo al TDM

#### *BDNF*

La frecuencia del polimorfismo Val66Met en estado heterocigoto fue de 37,8% en la población de estudio; la variante met en estado homocigoto fue encontrada en solo un individuo del grupo de pacientes. Por lo anterior, este individuo fue agrupado con el estado heterocigoto definiendo esta agrupación como “Portador met”. La frecuencia genotípica no está acorde con el equilibrio Hardy-Weinberg en la población total (Valor-P= 0.01) y presenta también una desviación en el grupo control (Valor-P=0.0178). La frecuencia del polimorfismo no difiere entre los sexos en casos y controles (Valor-P= 1 y 0,64 respectivamente). A nivel de asociación, en la tabla 1 se presenta la frecuencia de cada uno de los genotipos entre ambos grupos. No fue posible encontrar una correlación entre la manifestación del desorden y la variación Val66Met del BDNF. Así mismo tampoco es posible encontrar una relación significativa entre este genotipo y la afectividad negativa derivada de la depresión y derivada de la ansiedad, endofenotipos propios del desorden y evaluados con las pruebas IDER y STAI respectivamente (IDER: Valor-P=0.49; STAI: Valor-P= 0,37).

**Tabla 5** Análisis de la variante Val66Met en el desarrollo del TDM

	<b>Genotipo</b>		<b>Estadísticos</b>		
	<b>Val/Val</b>	<b>Portador Met</b>	<b>ODDs</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Valor-P</b>
<b>Diagnóstico</b>			1,4381	0,73-2,85	0.5757
Depresión	57 (66,28%)	29 (33,72%)			
No Depresión	45 (57,69%)	33 (42,31%)			

#### 5-HTTLPR

La frecuencia del alelo corto de la región polimórfica fue de 56,83% en la población de estudio, encontrándose en estado homocigoto en un 30,2% de la misma. La distribución del polimorfismo no difiere entre sexos en casos y controles (Valor-P= 0.52 y 0.85 respectivamente) y está acorde con el equilibrio Hardy-Weinberg (Valor-P=0.32). En la tabla 2 se evidencia que el alelo largo fue menos frecuente tanto en casos como controles. Por otra parte, las frecuencias resultan similares entre casos y controles, indicando que no existe una asociación entre estos genotipos y el TDM en la población de estudio. El análisis del endofenotipo no permite relacionar el genotipo a la afectividad negativa derivada de la depresión (Valor-P=0.14) y la ansiedad (Valor-P=0.15)

**Tabla 6.** Asociación de la región polimórfica 5-HTTLPR en el desarrollo del TDM

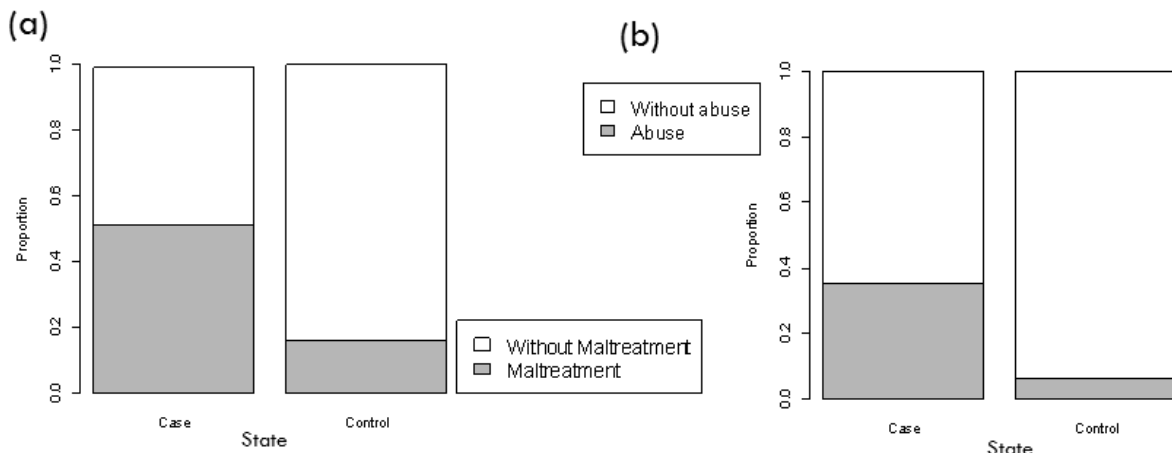
	<b>Genotipo</b>			<b>Estadísticos</b>		
	<b>s/s</b>	<b>s/l</b>	<b>l/l</b>	<b>ODDs</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Valor-P</b>
<b>Diagnóstico</b>				1,2261	0,73-2,85	0.2237
Depresión	24 (28,9%)	43 (51,8%)	16 (19,2%)			
No Depresión	18 (32,1%)	31 (55,4%)	7 (12,5%)			

#### Relación entre ambiente y desarrollo del Trastorno

Para el análisis del efecto inmediato del ambiente sobre el desarrollo del TDM se tuvieron en cuenta dos etapas relevantes para el desarrollo de trastornos psiquiátricos: etapas tempranas del desarrollo del individuo y la etapa previa a la manifestación del episodio. Para analizar las etapas tempranas se tuvieron en cuenta dos fenómenos que tienen impacto en el desarrollo futuro del Trastorno depresivo mayor de acuerdo a diferentes autores (Caspi et al, 2003; Jiang et al, 2013): el maltrato y el abuso sexual en edades que van desde los 2 a los 20 años. Por su parte, la etapa previa al desarrollo del episodio se analizó mediante el auto-reporte de la ocurrencia de eventos estresantes negativos y el estrés experimentado en cada uno de ellos durante los dos años previos al Trastorno.

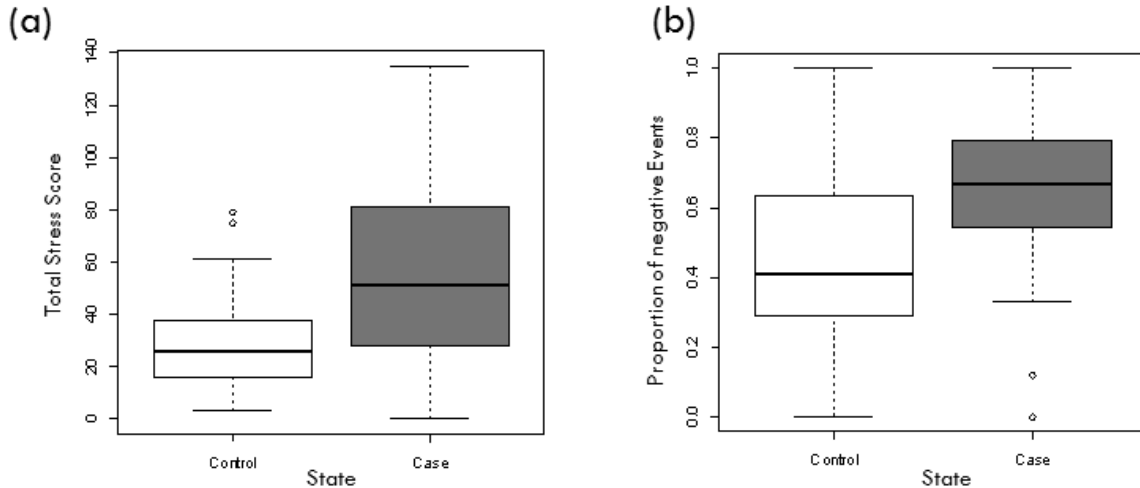
En la población estudiada se encontraron 58 y 35 individuos que manifestaron haber sufrido de maltrato y abuso sexual respectivamente durante su infancia o adolescencia. La proporción de ocurrencia de estos factores entre casos y controles se muestra en la figura 1. Ambas variables muestran una relación significativa respecto a la presencia del Trastorno depresivo mayor (Maltrato: OR=0.17, IC=0.07-0.39, Valor-P=6,62e-5; Abuso: OR=0.12, IC=0.029-0.37, Valor-P=5.24e-04) cuando son analizadas en un modelo que no incluye las covariables restantes. Aun así,

cuando se estudia en conjunto con las variables genéticas, los eventos estresores y los factores de interacción, este efecto significativo no se repite (Maltrato Valor-P =0.22; Abuso Valor-P abuso=0.13).



**Fig. 1** Proporción de la población que experimentó eventos estresores en etapas tempranas. Los eventos son: (a) Maltrato o (b) Abuso sexual durante la infancia o adolescencia

Los resultados para los estresores recientes se pueden observar en la figura 2. Las variables nivel de estrés y la proporción de eventos negativos se correlacionan significativamente con la presencia del Trastorno (Valores P: 0.031 y 0.04 respectivamente)



**Fig. 1** Resultados para la presencia de eventos estresores reportado por los casos y controles. (a) Nivel de estrés reportado por cada uno de los grupos. (b) Proporción de eventos negativos, normalizado por el total de eventos ocurridos.

### Interacción GenxAmbiente

Al analizar en conjunto el efecto de las variables genéticas y los eventos estresores tanto en la vida adulta como en etapas tempranas, así como su interacción, se encontró que solo los factores ambientales se relacionan con la presencia del TDM. A pesar de lo anterior, no fue posible

establecer un efecto modulador del genotipo sobre la vulnerabilidad a estos estresores como se observa en la Tabla 3.

**Tabla 7** Análisis de Interacción Genotipo x Ambiente

Interacción	Coficiente	Valor-P
<b>BDNF</b>		
Maltrato	0.01517	0.9351
Abuso	0.23625	0.2593
Eventos negativos recientes	-0.15838	0.6241
<b>5-HTTLPR</b>		
Maltrato	0.11103	0.3775
Abuso	-0.17179	0.2141
Eventos negativos recientes	0.10148	0.6801

### Interacción GenxGen

Estudios previos muestran que puede existir una relación entre las rutas serotoninérgicas y neurotróficas, indicando un posible efecto de epístasis entre sus genes (Wells y McGeary, 2011). Aun así en este trabajo no fue posible inferir un efecto epistático entre las variables de interés (Coef=-0.01802; Valor-P=0.8853).

## Discusión

### *Población estudiada: Características del Trastorno y del genotipo*

Los resultados obtenidos muestran que el TDM es diagnosticado con más frecuencia en mujeres que en hombres en la población Colombiana, información que coincide con el estudio realizado por el grupo de Gómez-Restrepo (2004) y la reciente Encuesta Nacional de enfermedades psiquiátricas (Ministerio de Salud, 2015) sobre la epidemiología de este Trastorno. Esto es un patrón que se repite en diferentes grupos étnicos por lo cual, más que por el contexto social o emocional, es posible que esto se deba a que las mujeres sean más susceptibles los cambios hormonales por diversas razones metabólicas o psicosociales. Las hormonas presentan constantes picos y valles en las mujeres debido a fenómenos como la menstruación, el embarazo y parto, y la menopausia. Así mismo se ven afectadas por eventos estresores asociados al trabajo y las responsabilidades en el hogar. Estos cambios hormonales propios del género femenino podrían ser la causa de la mayor vulnerabilidad de las mismas para el TDM (Eskandari et al, 2007; Rubinow et al, 1998; NIH, 2011).

A nivel genético, en el gen BDNF se encontró que el alelo G o Met presentaba una frecuencia alélica equivalente al 0.1921, valor cercano al reporte ofrecido por el proyecto Los Mil Genomas que reporta un MAF para este polimorfismo de 0.2013 pero que no coincide con previos estudios

en población colombiana (0,11 y 0,14 (Forero et al, 2005; Perea, et al, 2012;)). Teniendo en cuenta esta información se hace hincapié en la importancia de realizar más estudios que permitan determinar la frecuencia real del polimorfismo en población colombiana y determinar si esta frecuencia es propia de la mezcla poblacional que constituye nuestro contexto histórico. Por otro lado, en la muestra de estudio, esta variante se encontró en estado homocigoto en un solo individuo dando lugar a una violación del equilibrio de Hardy-Weinberg en el grupo control. Tras la verificación del correcto funcionamiento de la genotipificación a través del análisis de los controles positivos y de la repetición de la genotipificación de muestras al azar, se sugiere un efecto deletéreo de la falta de segregación de la proteína generada por este alelo. Este efecto puede estar dado porque la ausencia de la proteína generada por este alelo en estado homocigoto puede dar lugar a atrofia y pérdida neuronal en el hipocampo y en la corteza prefrontal (Duman y Monteggia, 2006). Adicionalmente las neurotrofinas pueden regular la proliferación y diferenciación de las células precursoras así como prevenir la muerte celular durante el desarrollo. Dentro del grupo de las neurotrofinas, el BDNF genera un aumento en el número de neuronas motoras en el tubo neural ventral (Jungbluth et al, 1997), razón por la cual la variante met en estado homocigoto podría presentar efectos deletéreos que disminuyen su frecuencia en la población. Debido a la alta posibilidad de un efecto deletéreo y poca probabilidad de sesgos en la genotipificación de esta variante se tuvo en cuenta el polimorfismo dentro del análisis de asociación.

Por otro lado, las frecuencias para el 5-HTTLPR indicaron que el alelo corto se evidencia con mayor frecuencia en la muestra clínica (55%) y en los controles (59%) a pesar de que estudios anteriores en población caucásica lo mostraban como un alelo recesivo. Estas frecuencias coinciden con las halladas en trabajos previos que analizaron diferentes regiones de Colombia; debido a esto, se puede llegar a pensar que la mezcla étnica en nuestra población ha dado lugar a una frecuencia exclusiva de la misma. Sin embargo, para poder llegar a esta conclusión se requieren más análisis con un número de muestra mayor y que abarque más regiones del país.

#### *Asociación de los factores ambientales al TDM*

En el contexto del Trastorno, existe una bibliografía extensa que ha analizado las causas del mismo. De estos trabajos existe evidencia contundente que asocia el ambiente con el desarrollo de la enfermedad. En el presente trabajo, los resultados muestran que tanto el estrés temprano como el previo al desarrollo del episodio son factores fuertemente asociados a la presencia de un trastorno depresivo mayor, sumándose a la evidencia presentada en la literatura. Es importante resaltar que aunque se está evaluando maltrato y abuso de manera retrospectiva, lo cual ha sido criticado en estos análisis, el trabajo de Scott y colaboradores (2010) ha demostrado que sin importar la manera en que estas variables sean evaluadas, la significancia de los resultados, se mantiene en un grado similar.

### *Análisis de asociación de los factores genéticos*

Varios estudios han asociado el BDNF con el TDM: en modelos animales, se ha visto que al inducir una disminución en el BDNF se evidencian comportamientos de miedo y ansiedad social y generalizada (Chourbaji, et al., 2011). También se ha visto que los tratamientos antidepresivos aumentan los niveles de BDNF endógenos (Lyons, et al., 1999; Duman y Monteggia, 2006) y que la administración intra-cerebral tiene propiedades antidepresivas (Altar, et al., 1999; Siuciak, et al., 1997). Así mismo, algunos estudios presentan evidencia que indica que los niveles cerebrales de BDNF se encuentran reducidos en pacientes que han cometido suicidio (Dwivedi et al, 2003). A pesar de lo anterior, la evidencia presentada en este estudio indica que no existe una correlación entre la variable Met y el desarrollo del Trastorno en la población estudiada o que su efecto es poco importante en relación a los estresores ambientales. Por otro lado, tampoco fue posible establecer una asociación dependiente del sexo a pesar de que se conoce que el polimorfismo Val66Met afecta la conectividad funcional en la Corteza Prefrontal de manera diferencial en hombres y en mujeres (Wei et al., 2012) y se sabe las alteraciones en esta zona se pueden asociar con la depresión y sus síntomas (Koenigsn y Grafman, 2010).

A nivel de la región polimórfica 5-HTTLPR tampoco es posible establecer una relación entre el genotipo y el fenotipo del desorden. La presencia del alelo corto en esta región es considerada uno de los biomarcadores de depresión más representativo, debido a que el 5-HTTLPR está asociado con la respuesta de la amígdala al estrés (Kobiella et al, 2011). A pesar de lo anterior, en la población estudiada no se evidencian diferencias significativas en su presencia entre casos y controles. Este hecho no permite descartar que el genotipo no tenga un efecto significativo en la depresión pero es un acercamiento para pensar que el pool genético que gobierna el desarrollo de TDM en la población colombiana podría diferir respecto a otros grupos étnicos. En base esto la alta representatividad del alelo s en la población colombiana no supone un factor de riesgo para esta población en particular. Aun así, se requiere realizar más estudios al respecto en esta población en específico. Adicionalmente, es importante realizar un control por estratificación poblacional para evitar que esto pueda ser una variable de confusión en el contexto de las variantes genéticas asociadas al desorden.

### *Análisis de Interacción*

En el contexto de la interacción entre este ambiente mencionado y el contexto genético en la psicopatología del desorden se han observado diversos estudios que han analizado ambas variables y su relación con la adversidad en etapas tempranas. Entre ellos destacan trabajos en población colombiana (Perea et al, 2012), española (Aguilera et al, 2009), belga (Wichers et al, 2008) y alemana (Grabe et al, 2012), los cuales han encontrado una asociación entre la interacción de la adversidad en etapas tempranas con el polimorfismo Val66Met y la sintomatología depresiva. De estos estudios, tres han encontrado a su vez una interacción entre los polimorfismos estudiados y la vulnerabilidad generada en exposición a adversidad temprana. En el presente trabajo, no se encontró evidencia significativa que vinculara la interacción entre ninguno de los

genotipos y la adversidad temprana. La divergencia entre los resultados podría deberse en principio a factores de confusión como lo son la etnicidad, el sexo y la edad, sin embargo, los estudios que han hallado relación significativa para esta interacción se han realizado en poblaciones con ancestros históricos diferentes, y en hombres y mujeres de diversas edades por lo que se demuestra que estos factores no son los que influyen sobre la falta de reproducción de los resultados de otros autores. Aun así, existe un factor que es diferente en estos estudios y el presente; en los trabajos mencionados, la muestra de individuos surge desde población sana y no clínica y la evaluación surge del análisis de endofenotipos o sintomatología de esta muestra y no del diagnóstico del Trastorno. El patrón visto en los estudios de interacción de adversidad temprana y genes, no aparece cuando se habla de adversidad en etapas tardías o previas al evento.

A nivel del 5-HTTLPR, algunos estudios (Risch et al, 2009; Power et al, 2008; Gillespie et al., 2005) indican que aunque los estresores recientes están implicados en el Trastorno, no se da una interacción entre el genotipo en el transportador de serotonina y estos eventos. Sin embargo, otros estudios realizados en gemelos (Jacobs et al, 2006; Kendler et al, 2005), si lograron mostrar una interacción entre la variante y los eventos estresores recientes. La investigación realizada muestra una evidencia acorde con los primeros autores donde no es posible encontrar una interacción entre el 5-HTTLPR y los eventos estresores recientes. La evidencia a favor de este fenómeno muestra una aproximación metodológica diferente, la cual analiza efectos epistáticos o un pool genético igual en gemelos que difieren en sus estresores recientes. Teniendo en cuenta este fenómeno se puede pensar que la controversia generada entre los resultados dados, se debe a que el polimorfismo 5-HTTLPR debe ser estudiado en relación a la combinación que presenta con otras variables genéticas y no como un gen independiente. Para poder acercarse a esta aproximación, la muestra debe ser ampliada pues se requiere un mayor poder estadístico para incluir las variables de interacción en el modelo. Adicionalmente se considera que los estudios que han encontrado asociación han superado la limitación de poder datar el evento que desencadenó el episodio depresivo (Brown y Harris, 2008).

Con respecto al SNP Val66Met, la evidencia nuevamente es controversial. Estudios en gemelos (Chen et al, 2013; Chen et al, 2012) han demostrado un efecto significativo de la interacción entre el BDNF y los eventos estresores. El metaanálisis realizado por el grupo de Hosang también demostró un efecto significativo de estos eventos; estos autores sugieren que la falta de evidencia de la interacción de eventos estresores con el BDNF se debe al uso de listas de auto-reporte. Es posible que si se realizan entrevistas individuales, el sesgo se reduzca en la población estudiada, aun así esto no soluciona el hecho de la comparabilidad entre estudios. La mayoría de trabajos analiza la ocurrencia de ciertos eventos, sin embargo, a diferencia de los eventos que se tienen para la adversidad temprana (maltrato, abuso y negligencia), los eventos estresores en las etapas adultas presentan un amplio rango de aspectos de la vida diaria por lo que no todos los estudios abarcan los mismos eventos. El estudio de (Brown et al, 2014) muestra la presencia de esta interacción cuando el análisis es realizado solo en mujeres, lo cual se convierte en una co-variable



que debe ser analizada con cuidado y ser tomada en cuenta cuando se busca replicar los resultados previamente obtenidos en otras poblaciones.

Estudios previos muestran que la epístasis entre estos dos polimorfismos se relaciona con la vulnerabilidad diferencial tras la exposición a diversos ambientes. También se ha analizado el efecto de la interacción de los genes de manera directa sin tener en cuenta el efecto modulador que tiene sobre el ambiente (Wells), aproximación que se ha implementado en este estudio debido al número limitado de muestra. Los resultados indican que no es posible establecer una relación de la interacción gen x gen sobre la presencia del TDM. Analizar otros polimorfismos dentro del BDNF y la interacción entre polimorfismos tipo SNP encontrados dentro de la región polimórfica puede constituir una aproximación interesante para entender las relaciones a nivel genético y su relación con los trastornos depresivos. Entre estos SNPs es importante tener en cuenta el rs25531, el cual solo se puede ver en el alelo largo de la región y presenta dos formas A/G. Este alelo presenta eficiencias transcripcionales diferentes donde la del alelo G resulta similar a la del alelo corto (Hu et al, 2006), dando lugar a una posible variable de confusión.

Es importante tener en cuenta que tanto el Val66Met del BDNF como los alelos S y L de la región polimórfica son variantes que se encuentran frecuentemente en la población general. Esto sugiere que, aunque se ha demostrado que ambas tienen un efecto significativo en la severidad de los síntomas de individuos sanos, en la población clínica el efecto de las variantes puede perder significancia. Así, los polimorfismos estudiados podría conferir una baja penetrancia a la enfermedad al interactuar con eventos estresores en esta última población y otras variables, menos comunes podrían tener un efecto más significativo. Por otro lado, los aspectos epigenéticos podrían resultar relevantes en el trastorno por lo cual esto se convierte en un paso a seguir para este proyecto.

#### *Fortalezas y limitaciones del estudio*

El presente trabajo se realizó en conjunto con un grupo de psiquiatras y psicólogos entrenados para el diagnóstico del Trastorno. La fenotipificación de la enfermedad se realizó cuidadosamente teniendo en cuenta no solo que la población correspondiera a una muestra clínica, sino que el trastorno depresivo presentado por los pacientes correspondiera a un TDM y no a otros tipos de depresión, también se tuvo en cuenta si presentaba comorbilidad con trastornos asociados a la enfermedad. Estos aspectos permitieron tener un diagnóstico claro, sin embargo, entre las limitaciones encontradas en el estudio se encuentran el uso lista de chequeo de auto reporte para la ocurrencia de eventos estresantes. Una entrevista interpersonal puede dar lugar a información más precisa. Adicionalmente no se tuvo en cuenta el número de episodios depresivos previos, lo cual puede ser una variable de confusión (Bukh et al, 2009). Por otro lado se asumió independencia gen-ambiente pues no se conoce información que indique si las variables estudiadas podrían dar lugar a una tendencia exponerse a un ambiente determinado. Del mismo modo se asume que no existe estratificación poblacional en la medida que casos y controles

proviene de población de la ciudad de Bogotá, no obstante, es importante tener en cuenta la necesidad de este análisis para confirmar los resultados obtenidos.

## Conclusión

Este estudio mostró una fuerte correlación de las variables ambientales y la presencia de la enfermedad, lo cual ha sido ampliamente catalogado. No obstante, a pesar de la asociación encontrada entre estos dos polimorfismos y la depresión en estudios previos, los resultados presentados no muestran asociación con el TDM y las variantes genéticas o la interacción de estas últimas con el ambiente.

Estos resultados se suman a la lista de estudios que buscan analizar los eventos causales de la depresión y que presentan resultados controversiales que limitan la capacidad de sacar conclusiones acerca de este Trastorno. La discrepancia entre estudios, hace que sea imposible identificar si la razón de esta controversia se debe a errores tipo I, la existencia de co-variables como lo es la etnicidad que interactúan con las variantes genéticas para dar lugar a un fenotipo, o un efecto muy pequeño de las variantes sobre el desorden. Por lo anterior, el trabajo en conjunto se hace imperativo en esta era de la comunicación para la realización de estudios que trabajen bajo los mismos parámetros. La fenotipificación de los individuos y el análisis de la exposición ambiental se convierten en puntos clave que deben ser evaluados con sumo cuidado. Así mismo, los estudios de replicación deben realizarse teniendo en cuenta que el sexo y la edad son dos variantes que podrían llevar a resultados muy diferentes, por ello, la depresión debería ser evaluada en hombres y mujeres de forma separada así como en los diversos grupos de edad.

## Agradecimientos

Se agradece a todos los individuos que se integraron al estudio, casos y controles. Así mismo debe agradecer a la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados por su apoyo en la financiación de este proyecto

## Bibliografía

- Agudelo, D.M. (2009) Propiedades psicométricas del Inventario de Depresión Estado/Rasgo (IDER) con adolescentes y universitarios de la ciudad de Bucaramanga. *Pensamiento Psicológico*, Vol 5 (2), pp. 139-160
- Aguilera M1, Arias B, Wichers M, Barrantes-Vidal N, Moya J, Villa H, van Os J, Ibáñez MI, Ruipérez MA, Ortet G, Fañanás L. Early adversity and 5-HTT/BDNF genes: new evidence of gene-environment interactions on depressive symptoms in a general population. [Psychol Med.](#) 2009 Sep;39(9):1425-32
- Altar, C.A., (1999). Neurotrophins and depression. *Trends Pharmacol. Sci.*, Vol. 20, pp. 59-61.

- Beck, A.T., Steer, R.A., & Brown, G.K. (1996). Manual for the Beck Depression Inventory-II. San Antonio, TX: Psychological Corporation.
- Belmarker, R.H. y Agam, M.D. 2008. Major depressive disorder. *The new England journal of Medicine*, 358: 55-68
- 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*, 111(1), 1–12. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2008.04.009>
- Brown, G. W., Craig, T. K. J., Harris, T. O., Herbert, J., Hodgson, K., Tansey, K. E., & Uher, R. (2014). Functional polymorphism in the brain-derived neurotrophic factor gene interacts with stressful life events but not childhood maltreatment in the etiology of depression. *Depression and Anxiety*, 31(4), 326–34. <http://doi.org/10.1002/da.22221>
- Brown, GW, Harris TO: Social Origins of Depression. A Study of Psychiatric Disorder in Women. London, UK: Routledge; 1978
- Bukh, J., Bock, C., Vinberg, M., Werge, T., Gether, U., Vedel Kessing, L. (2009). Interaction between genetic polymorphisms and stressful life events in first episode depression. *Journal of affective disorders* 119 (1-3): 107-15
- Caldwell, W., McInnis, O. a, McQuaid, R. J., Liu, G., Stead, J. D., Anisman, H., & Hayley, S. (2013). The Role of the Val66Met Polymorphism of the Brain Derived Neurotrophic Factor Gene in Coping Strategies Relevant to Depressive Symptoms. *PloS One*, 8(6), e65547. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0065547>
- Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, et al. (2003) Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 301: 386–389
- Chen, J., Li, X., & McGue, M. (2012). Interacting effect of BDNF Val66Met polymorphism and stressful life events on adolescent depression. *Genes, Brain, and Behavior*, 11(8), 958–65. <http://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2012.00843.x>
- Chen, J., Li, X., & McGue, M. (2013). The interacting effect of the BDNF Val66Met polymorphism and stressful life events on adolescent depression is not an artifact of gene-environment correlation: evidence from a longitudinal twin study. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 54(10), 1066–73. <http://doi.org/10.1111/jcpp.12099>
- Chen, Z.Y., Jing, D., Bath, K.G., Ieraci, A., Khan, T., Siao, C.J., Herrera, D.G., Toth, M., Yang, C., McEwen, B.S., Hempstead, B.L., Lee, F.S. 2006. Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science*, 314:140–143
- Chen, Z.Y., Patel, P.D., Sant, C., Meng, X., Teng, K.K., Hempstead, B.L., Lee, F.S. 2004. Variant brain-derived neurotrophic factor (BDNF) (G. Met66) alters the intracellular trafficking and activity-dependent secretion of wild-type BDNF in neurosecretory cells and cortical neurons. *J. Neurosci.*, 24: 4401–4411.
- Chourbaji, S., Brandwein, C., & Gass, P. (2011). Altering BDNF expression by genetics and/or environment: impact for emotional and depression-like behaviour in laboratory mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(3), 599–611. [doi:10.1016/j.neubiorev.2010.07.003](http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.07.003)

- Dalton, E. D., Hammen, C. L., Najman, J. M., & Brennan, P. a. (2014). Genetic Susceptibility to Family Environment : BDNF Val66met and 5-HTTLPR Influence Depressive Symptoms. *Journal of Family Psychology, Advance on*.
- Duman, R.S.& Monteggia, L.M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol. Psychiatry* 59, 1116–1127 (2006).
- Duncan, L., Hutchison, K., Carey, G., & Craighead, W. (2009). Variation in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene is associated with symptoms of depression. *Journal of Affective Disorders*, 115, 215–219. doi:10.1016/j.jad.2008.08.016
- Dwivedi Y1, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Tamminga CA, Pandey GN. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry* 60(8):804-15
- Egan, M., Kojima, M., & Callicott, J. 2003. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell*, 112, 257–269.
- Escobar, C., Calderón, o., & Moreno, G. (2011). Allelic polymorphism in the serotonin transporter gene in major depression patients\*. *Colombia Médica*, 42(1), 48-53. Retrieved from <http://colombiamedica.univalle.edu.co/index.php/comedica/article/view/750/1401>
- Eskandari F, Martinez PE, Torvik S, Phillips TM, Sternberg EM, Mistry S, Ronsaville D, Wesley R, Toomey C, Sebring NG, Reynolds JC, Blackman MR, Calis KA, Gold PW, Cizza G, for the POWER Study Group. Low bone mass in premenopausal women with depression. *Archives of Internal Medicine*, 2007 Nov 26; 167(21):2329–2336.
- Ferrari, A. J., Charlson, F. J., Norman, R. E., Patten, S. B., Freedman, G., Murray, C. J., Vos, T., & Whiteford, H. A. (2013). Burden of depressive disorders by country, sex, age, and year: findings from the global burden of disease study 2010.
- Fisher, H.L., Cohen-Woods, S., Hosang, G.M., Korszun, A., Owen M, Craddock N, Craig IW, Farmer AE, McGuffin P, Uher R. 2013. Interaction between specific forms of childhood maltreatment and the serotonin transporter gene (5-HTT) in recurrent depressive disorder. *JAffectDisord*, 145:136–141
- Forero, D.A., Benitez, B., Arboleda, G., Yunis, J.J., Pardo, R., Arboleda, H. (2006). Analysis of functional polymorphisms in three synaptic plasticity-related genes (BDNF, COMT AND UCHL1) in Alzheimer's disease in Colombia. *Neuroscience Research* 55 (3): 334–341.
- Galli-Silva, E., Feijóo-Llontop, L., Roig-Rojas, I., Romero-Elmore, S. 2002. Aplicación del "MINI" como orientación diagnóstica psiquiátrica en estudiantes de medicina de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Informe preliminar epidemiológico. *Rev Med Hered* 13 (1): 19-25
- Gelernter, J., Kranzler, H., Cubells, J.F. 1997. Serotonin transporter protein (SLC6A4) allele and haplotype frequencies and linkage disequilibria in African- and European-American and Japanese populations and in alcohol-dependent subjects. *Hum Genet*, 101(2):243-6.
- Gershon ES, Hamovit J, Guroff J, Dibble E, Leckman JF, Sceery W, et al. A family study of schizoaffective, bipolar I, bipolar II, unipolar, and normal control probands. *Archives of General Psychiatry* 1982;39(10):1157–67

- Gillespie, N.A., Whitfield, J.B., Williams, B., Heath, A.C., Martin, N.G., 2005. The relationship between stressful life events, the serotonin transporter (5-HTTLPR) genotype and major depression. *Psychol. Med.* 35, 101–111
- Gillespie, Ch. y Nemeroff, Ch. (2005). Early life stress and depression: Childhood trauma may lead to neurobiologically unique mood disorders. *Current Psychiatry* 4 (10). Disponible en: [http://www.currentpsychiatry.com/index.php?id=22661&tx\\_ttnews%5Btt\\_news%5D=169044](http://www.currentpsychiatry.com/index.php?id=22661&tx_ttnews%5Btt_news%5D=169044)
- Gotlib, I. H., Joormann, J., Minor, K. L., & Hallmayer, J. (2008). HPA axis reactivity: a mechanism underlying the associations among 5-HTTLPR, stress, and depression. *Biological Psychiatry*, 63(9), 847–51. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.10.008>
- Gomez-Restrepo, C., Bohórquez, A., Pinto-Masis, D., Gil-Laverdell, J.F.A., Rondón-Sepúlveda, M., Díaz-Granados, N. 2004. *Rev Panam Salud Publica*, 16 (6)
- Govindarajan, A., Rao, B. S. S., Nair, D., Trinh, M., Mawjee, N., Tonegawa, S., Chattarji, S. Transgenic brain-derived neurotrophic factor expression causes both anxiogenic and antidepressant effects. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 103: 13208-13213, 2006
- Grabe HJ1, Schwahn C, Mahler J, Appel K, Schulz A, Spitzer C, Fenske K, Barnow S, Freyberger HJ, Teumer A, Petersmann A, Biffar R, Roskopf D, John U, Völzke H. (2012). Genetic epistasis between the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and the 5-HTT promoter polymorphism moderates the susceptibility to depressive disorders after childhood abuse. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*;36(2):264-70
- Haberstick, B. C., Smolen, A., Williams, R. B., Bishop, G. D., Foshee, V. A., Thornberry, T. P., ... Harris, K. M. (2015). POPULATION FREQUENCIES OF THE TRIALLELIC 5HTTLPR IN SIX ETHNICALLY DIVERSE SAMPLES FROM NORTH AMERICA, SOUTHEAST ASIA, AND AFRICA. *Behavior Genetics*, 45(2), 255–261. <http://doi.org/10.1007/s10519-014-9703-5>
- Variante Val66Met del BDNF
- Hall-Ramirez, V. 2003. Depresión: fisiopatología y tratamiento. Serie de actualización profesional. Instituto de investigaciones farmacéuticas. Universidad de Costa Rica
- Hankin, B. L., Barrocas, A.L., Jenness, J., Oppenheimer, C.W., Badanes, L.S., Abela, J.R. Z., Young, J., Smolen, A. Association between 5-HTTLPR and borderline personality disorder traits among youth. *Frontiers in Psychiatry*, 9.
- Heils, A., Teufel, A., Petri, S., Riederer, P., Bengel, D., Lesh, P. (1996). Allelic Variation of Human Serotonin Transporter Gene Expression. *Journal of Neurochemistry*. Lippincott—Raven Publishers, Philadelphia
- Hosang GM, Shiles C, Tansey KE, McGuffin P, Uher R. (2014) Interaction between stress and the BDNF Val66Met polymorphism in depression: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med* 2014, 12:7
- Huang, E.J., Reichardt, L.F. 2001. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci*, 24:677–736.
- Hu XZ, Lipsky RH, Zhu GS, Akhtar LA, Taubman J, Greenberg BD et al. Serotonin transporter promoter gain-of-function genotypes are linked to obsessive-compulsive disorder. *Am J Hum Genet* 2006; 78: 815–826.

- Jacobs N, Kenis G, Peeters F, Derom C, Vlietinck R, van Os J. Stress-Related Negative Affectivity and Genetically Altered Serotonin Transporter Function: Evidence of Synergism in Shaping Risk of Depression. *Arch Gen Psychiatry*. 2006;63(9):989-996. doi:10.1001/archpsyc.63.9.989.
- Jiang, R., Brummett, B., & Babyak, M. (2013). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val66Met and adulthood chronic stress interact to affect depressive symptoms. *Journal of Psychiatric ...*, 47(2), 233–9. <http://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2012.10.009>
- Jungbluth S1, Koentges G, Lumsden A. (1997). Coordination of early neural tube development by BDNF/trkB. *Development*. 1997 May;124(10):1877-85.
- Joiner, T.E., Catanzaro, S.J., Lurent, J., Sandin, B., Blalock, J.A. (1996) Modelo tripartito sobre el afecto Positivo y negativo, la depresión y la ansiedad: evidencia basada en la estructura de los síntomas y en diferencias sexuales. *Revista de Psicopatología y Psicología Clínica* 1(1): 27-34
- 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. *Arch Gen Psychiatry* 68: 444–454
- Kaufman, J., Yang, B.-Z., Douglas-Palumberi, H., Grasso, D., Lipschitz, D., Houshyar, S., ... Gelernter, J. (2006). Brain-derived neurotrophic factor-5-HTTLPR gene interactions and environmental modifiers of depression in children. *Biological Psychiatry*, 59(8), 673–80. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.10.026>
- Kendler KS, Kuhn JW, Vittum J, Prescott CA, Riley B (2005) The interaction of stressful life events and a serotonin transporter polymorphism in the prediction of episodes of major depression: a replication. *Arch Gen Psychiatry* 62: 529–35
- Kendler KS, Kuhn JW, Vittum J, Prescott CA, Riley B. The Interaction of Stressful Life Events and a Serotonin Transporter Polymorphism in the Prediction of Episodes of Major Depression: A Replication. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62(5):529-535. doi:10.1001/archpsyc.62.5.529.
- Kim, J.-M., Stewart, R., Kim, S.-W., Yang, S.-J., Shin, I.-S., Kim, Y.-H., & Yoon, J.-S. (2007). Interactions between life stressors and susceptibility genes (5-HTTLPR and BDNF) on depression in Korean elders. *Biological Psychiatry*, 62(5), 423–8. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.11.020>
- Kobiella, A., Reimold, M. Ulshöfer, D.E., Ikonomidou, V.N., Vollmert, C., Vollstädt-Klein, S., Rietschel, M., Reischl, G., Heinz, A. and Smolka, M.N. (2011). How the serotonin transporter 5-HTTLPR polymorphism influences amygdala function: the roles of in vivo serotonin transporter expression and amygdala structure. *Translational Psychiatry* 1, e37
- Koenigs, M., & Grafman, J. (2009). The functional neuroanatomy of depression: Distinct roles for ventromedial and dorsolateral prefrontal cortex. *Behavioural Brain Research*, 201(2), 239–243. <http://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.03.004>
- Lee, Y., Lim, S. W., Kim, S. Y., Chung, J. W., Kim, J., Myung, W., ... Kim, D. K. (2013). Association between the BDNF Val66Met Polymorphism and Chronicity of Depression. *Psychiatry Investigation*, 10(1), 56–61. <http://doi.org/10.4306/pi.2013.10.1.56>
- Leibrock, J., Lottspeich, E., Hohn, A., Hofer, M., Hengerer, B., Masiakowski, P., Thoenen, H., Barde, Y-A. (1989) Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor. *Nature*, 341: 149-152.

- Lesch, K.P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S.Z., Greenberg, B.D., Petri, S., Benjamin, J., Muller, C.R., Hamer, D.H., Murphy, D.L. 1996. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*, 274 (5292), 1527–1531
- Lewin, G.R., Barde, Y.A. 1996. Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci*, 19:289–317.
- Lin, C.-H., Yen, Y.-C., Chen, M.-C., & Chen, C.-C. (2014). Depression and pain impair daily functioning and quality of life in patients with major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders*, 166, 173–8. doi:10.1016/j.jad.2014.03.039
- Lyons, W.E., Mamounas, L.A., Ricaurte, G.A., Coppola, V., Reid, S.W., Bora, S.H. (1999). Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 96: 15239–15244.
- Moya, P. R. (2013). Artículo de revisión el transportador de serotonina : variantes genéticas y trastornos neuropsiquiátricos ( Serotonin transporter : Gene variants and neuropsychiatric disorders ), 6, 19–23.
- Muhammad Asif, Mehboob-ur-Rahman, Javed Iqbal Mirza<sup>1</sup> and Yusuf Zafar. HIGH RESOLUTION METAPHOR AGAROSE GEL ELECTROPHORESIS FOR GENOTYPING WITH MICROSATELLITE MARKERS. *Pak. J. Agri. Sci.*, Vol. 45(1), 2008
- Nemadé, R., Staas-Reiss, N., Dombreck, M. 2007. Current Understandings Of Major Depression - Diathesis-Stress Model. *Mentalhealth.net*
- National Institute of Mental Health. (2011). What is depression. Ecupeado el 18 de Octubre de 2015, de: <http://www.nimh.nih.gov/health/publications/depression/index.shtml>
- Ospina-Duque, J., Duque, C., Carvajal-Carmona, L., Ortiz-Barrientos, D., Soto, I., Pineda, N., Cuartas, M., Callea, J., López, C., Ochoa, L., García, J., Gómez, J., Agudelo, A., Lozano, M. Montoya, G., Ospina, A., Lopez, M., Gallo, A., Ana Mirandaa, b, Lina Sernaa, b, Patricia Montoyaa, b, Carlos Palacioa, Gabriel Bedoyab, Mark McCarthyd, Victor Reuse, Nelson Freimere, Andres Ruiz-Linares
- Perea, C. S., Paternina, a C., Gomez, Y., & Lattig, M. C. (2012). Negative affectivity moderated by BDNF and stress response. *Journal of Affective Disorders*, 136(3), 767–74. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2011.09.043>
- Petryshen, T., Sabeti, P., Aldinger, K., Fry, B., Fan, J., Schaffner, S., Sklar, P. (2010). Population genetic study of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene. *Molecular Psychiatry*, 15(8), 810–815. <http://doi.org/10.1038/mp.2009.24>
- Pezawas, L., Meyer-Lindenberg, A., Drabant, E. M., Verchinski, B. A., Munoz, K. E., Kolachana, B. S., Egan, M. F., Mattay, V. S., Hariri, A.R. & Weinberger, D. R. (2005). 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: a genetic susceptibility mechanism for depression. *Nature neuroscience*, 8(6), 828-834.
- Pivac, N., Kim, B., Nedić, G., Joo, Y. H., Kozarić-Kovačić, D., Hong, J. P., & Muck-Seler, D. (2009). Ethnic Differences in Brain-derived Neurotrophic Factor Val66Met Polymorphism in Croatian and Korean Healthy Participants. *Croatian Medical Journal*, 50(1), 43–48. <http://doi.org/10.3325/cmj.2009.50.43>

- Power, T., Stewart, R., Ancelin, M.-L., Jaussent, I., Malafosse, A., & Ritchie, K. (2010). 5-HTTLPR genotype, stressful life events and late-life depression: no evidence of interaction in a French population. *Neurobiology of Aging*, 31(5), 886–7. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.06.006>
- ~~Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P.I.W., Daly, M.J. & Sham, P.C. 2007. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *American Journal of Human Genetics*, 81~~
- Risch, N., Herrel, R., Lehner, T., Kung-Yee, L., Eaves, L., Hoh, J., ... Ries Merikangas, K. (2015). Interaction Between the Serotonin Transporter Gene (5-HTTLPR), Stressful Life Events, and Risk of Depression. *American Medical Association*, 301(23).
- Roy, M., Tapadia, M. G., Joshi, S., & Koch, B. (2014). Molecular and genetic basis of depression. *Indian Academy of Sciences*, 93(3).
- Rubinow DR, Schmidt PJ, Roca CA. Estrogen-serotonin interactions: implications for affective regulation. *Biological Psychiatry*, 1998; 44(9):839–850.
- Sandín B, Chorot P. *Cuestionario de Sucesos Vitales (CSV)*. Madrid: Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED); 1987
- Scott KM, McLaughlin KA, Smith DA, Ellis PM: Childhood maltreatment and DSM-IV adult mental disorders: comparison of prospective and retrospective findings. *Br J Psychiatry* 2012, 200:469–475.
- Sharpley, C. F., Palanisamy, S. K. a, Glyde, N. S., Dillingham, P. W., & Agnew, L. L. (2014). An update on the interaction between the serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress and depression, plus an exploration of non-confirming findings. *Behavioural Brain Research*, 273C, 89–105. doi:10.1016/j.bbr.2014.07.030
- Siuciak, J.A., Lewis, D.R., Wiegand, S.J., Lindsay, R.M., (1997). Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmacol. Biochem. Behav.* 56, 131e137.
- Smith, M. a, Makino, S., Kvetnansky, R., & Post, R. M. (1995). Stress and glucocorticoids affect the expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in the hippocampus. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(3 Pt 1), 1768–77. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7891134>
- Sokero, T.P., Melartin, T.K., Rytsälä, H.J., Leskelä, U.S., Lestelä-Mielonen, P.S., Isometsä, E.T. 2003. Suicidal ideation and attempts among psychiatric patients with major depressive disorder. *J Clin Psychiatry*, 64(9):1094-100.
- Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene R, Vagg PR, Jacobs GA. (1983) *Manual for the State-Trait Anxiety Inventory*. Consulting Psychologists Press, Inc.; Palo Alto, CA: 1983.
- Sullivan, P. F., Neale, M. C., Ph, D., & Kendler, K. S. 2000. Reviews and Overviews Genetic Epidemiology of Major Depression : Review and Meta-Analysis, (October): 1552–1562.
- Taylor, W. D., Züchner, S., McQuoid, D. R., Steffens, D. C., Speer, M. C., & Krishnan, K. R. R. (2007). Allelic differences in the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism in late-life depression. *The American Journal of Geriatric Psychiatry : Official Journal of the*



- American Association for Geriatric Psychiatry, 15(10), 850–7.  
<http://doi.org/10.1097/JGP.0b013e318050c9d5>
- Uher, R., McGuffin, P. 2008. The moderation by the serotonin transporter gene of environmental adversity in the aetiology of mental illness: review and methodological analysis. *Mol Psychiatry*, 13:131–146
- Wei, S.M., Eisenberg, D.P., Kohn, P.D., Kippenhan, J.S., Kolachana, B.S., Weinberger, D.R., Berman, K.F., 2012. Brain-derived neurotrophic factor Val(6)(6) Met polymorphism affects resting regional cerebral blood flow and functional connectivity differentially in women versus men. *J. Neurosci.* 32, 7074e7081.
- Wells, T. T., & Mcgeary, J. E. (2011). Serotonin transporter and BDNF genetic variants interact to predict cognitive reactivity in healthy adults Tony. *Journal Affective Disorders*, 126, 223–229. <http://doi.org/10.1016/j.jad.2010.03.019.Serotonin>
- Wichers, M., Kenis, G., Jacobs, N., Mengelers, R., Derom, C., Vlietinck, R. and van Os, J. (2008), The BDNF Val<sup>66</sup>Met × 5-HTTLPR × child adversity interaction and depressive symptoms: An attempt at replication. *Am. J. Med. Genet.*, 147B: 120–123. doi: 10.1002/ajmg.b.30576
- Wiersma, J. E., Hovens, J. G., van Oppen, P., Giltay, E. J., Van Schaik, D. J., Beekman, A. T., & Penninx, B. W. (2009). The importance of childhood trauma and childhood life events for chronicity of depression in adults. *The Journal of clinical psychiatry*, 70(7), 983-989.
- Zakharenko, S.S., Patterson, S.L., Dragatsis, I., Zeitlin, S.O., Siegelbaum, S.A., Kandel, E.R., Morozov, A. 2003. Presynaptic BDNF required for a presynaptic but not postsynaptic component of LTP at hippocampal CA1–CA3 synapses. *Neuron*, 39:975–990
- Zalsman G, Huang YY, Oquendo MA, Burke AK, Hu XZ, Brent DA. (2006). Association of a triallelic serotonin transporter gene promoter region (5-HTTLPR) polymorphism with stressful life events and severity of depression. *Am J Psychiatry* 2006; 163:1588–1593.