

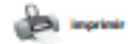


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
UNIDAD XOCHIMILCO. División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Formato SS-T

**SOLICITUD DE TÉRMINO  
DE SERVICIO SOCIAL**

Mtra. María Elena Contreras Garfias  
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
PRESENTE



Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
	19	4	2021				

**Datos del Alumno**

Nombre : Alejandro Negrete Fonseca

Matrícula : 2153059148      Licenciatura : Química Farmacéutica Biológica

Domicilio : Balboa 206 int. 102-B Col. Portales Norte. Del. Benito Juárez

Teléfono : -      Celular : 9981046840

Correo Electrónico : alexnegretef15@gmail.com      CURP : NEFA940915HQGNL08

**Datos del Proyecto**

Nombre del Proyecto : Asociación de tres variantes de nucleótido simple del gen TPH2 y la depresión resistente a tratamiento en población mexicana.

Lugar donde se realizó el Servicio Social : Instituto Nacional de Psiquiatria Ramón de la Fuente Muñiz

Dependencia : Gobierno de México

Entidad Federativa : Distrito Federal

Municipio : Tlalpan      Localidad : Calo México-Xochimilco 101, Col. Hálputco, Del. Tlalpan

Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año
	14	10	2019		14	4	2020


**PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES**

Sector: 3.- Público      Tipo: 1.- Externo

Orientación: 8.- Salud, Alimentación Y Nutrición

**FIRMAS**

Dra. Ana Laura Esquivel Campos  
Asesor Interno  
Nombre, firma y No. Económico



Dra. Beatriz Elena Camarena Medellín  
Asesor Externo  
Nombre, firma y No. Económico



Alejandro Negrete Fonseca  
Alumno  
Nombre, firma



Dra. María Angélica Gutiérrez Nava  
Vo. Bo. de la Comisión  
Nombre y firma de la persona que autoriza





**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



Ciudad de México, 30 de marzo de 2021.  
Oficio No. DESS-027-2021

Mtra. María Elena Contreras Garfias.  
Directora de la división de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Universidad Autónoma Metropolitana  
Unidad Xochimilco  
Presente.

Estimado maestro López:

Por este medio, se hace constar que el alumno **Alejandro Negrete Fonseca**, con número de matrícula **2153059148**, de la Carrera Química Farmacéutica Biológica, ha terminado satisfactoriamente su Servicio Social en este Instituto, en la Subdirección de Investigaciones Clínicas, en el programa titulado: **"Identificación de marcadores genéticos y neuroimagen en respuesta y tolerabilidad a los estabilizadores del ánimo y antidepresivos en pacientes con trastornos efectivos con perspectiva de género"** bajo la supervisión de la Dra. Beatriz Elena Camarena Medellín Jefe del Departamento de Farmacogenética, en el periodo comprendido del 14 de octubre de 2019 al 14 de abril de 2020, con un horario de lunes a viernes 4 horas diarias, cubriendo un total de 480 horas, desarrollando las siguientes actividades: Cuantificación de DNA, aplicación por PC, ge notificación, expresión de genes, extracción RNA y actividades propias del departamento.

Aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

  
Dr. Susana Medina Loera  
Jefa del Departamento Académico de la  
Dirección de Enseñanza



Ciudad de México., a 14 de abril del 2020.



**MTRA. MARÍA ELENA CONTRERAS GARFIAS**  
**DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**PRESENTE**

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que el alumno: ***Alejandro Negrete Fonseca*** con matrícula: **2153059148** concluyó el proyecto de Servicio Social titulado: **"Asociación entre tres variantes de nucleótido simple del gen *TPH2* y la depresión resistente a tratamiento en población mexicana"**. Qué se realizó de forma remota del **14 de octubre del 2019** al **14 de abril del 2020** bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas.

ATENTAMENTE:  
Dra. Ana Laura Esquivel Campos (No. Económico 33148)

Ciudad de México., a 14 de abril del 2020.



**MTRA. MARÍA ELENA CONTRERAS GARFIAS**  
**DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**PRESENTE**

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que el alumno: **Alejandro Negrete Fonseca** con matrícula: **2153059148** concluyó el proyecto de Servicio Social titulado: "**Asociación entre tres variantes de nucleótido simple del gen *TPH2* y la depresión resistente a tratamiento en población mexicana.**". Qué se realizó de forma remota del **14 de octubre del 2019** al **14 de abril del 2020** bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas.

ATENTAMENTE  
Dra. Beatriz Elena Camarena Medellín.



**Universidad Autónoma Metropolitana – Unidad  
Xochimilco**

**División: Ciencias Biológicas y de la Salud.  
Licenciatura: Química Farmacéutica Biológica**

**Asociación entre tres variantes de nucleótido  
simple del gen *TPH2* y la depresión resistente a  
tratamiento en población mexicana.**

**Asesoras:**

**Dra. Ana Laura Esquivel Campos**

UAM Xochimilco - Departamento de Sistemas Biológicos

No. Eco. 33148

**Dra. Beatriz Elena Camarena Medellín**

INPRFM – Departamento de Farmacogenética

**Alumno: Alejandro Negrete Fonseca**

**14-10-2019 – 14-04-2020**

## Índice

Antecedentes.....	6
Trastorno Depresivo Mayor (TDM) .....	6
Genética del TDM .....	7
Dianas terapéuticas del TDM .....	8
Farmacogenética del TDM .....	9
Depresión Resistente a tratamiento (DRT).....	11
Variantes genéticas del gen <i>TPH2</i> .....	12
Planteamiento del problema y Justificación.....	12
Hipótesis.....	13
Objetivo General .....	13
Objetivos Específicos .....	13
Materiales y Métodos .....	13
Resultados.....	15
Discusión de resultados. ....	16
Limitaciones del estudio .....	18
Perspectivas .....	18
Conclusiones .....	19
Agradecimientos .....	19
Bibliografía consultada .....	19

## Antecedentes

El trastorno depresivo mayor es un trastorno del estado de ánimo muy heterogéneo. Las clasificaciones psiquiátricas americana (DSM) e internacional (CIE) han llegado a un consenso en el cual dividen la sintomatología en 4 grupos principales: Fundamentales (tristeza, irritabilidad, anhedonia), somáticos (alteraciones del sueño, apetito, sexuales, fatiga), conductuales (problemas de concentración, memoria, psicomotoras) y del pensamiento (ideas de fracaso, culpa, desesperanza, suicidio y muerte) (APA, 2014)

La depresión es un problema de salud pública de alta prevalencia a nivel mundial, según la Organización Mundial de la Salud (*WHO, World Health Organization*), en el 2015, la proporción global de gente que padecía depresión era de 4.4% aproximadamente, con variaciones en la prevalencia entre regiones (*WHO, 2017*).

Las mujeres presentan, aproximadamente, el doble de prevalencia que los hombres de desarrollar depresión durante su vida. Estudios epidemiológicos han proporcionado evidencia de factores genéticos, influencias hormonales y capacidad de respuesta al estrés fisiológico, sin embargo, ninguna es completamente certera debido a la heterogeneidad de los factores de riesgo (Kuehner, C. 2017).

De acuerdo con datos obtenidos de la Encuesta Mundial de la Salud Mental (*World Mental Health Survey*), la depresión es prevalente durante toda la vida y, en México, la edad promedio de inicio de depresión es de 18 años. (Kessler, R. C et al. 2007). Según datos de la Encuesta Nacional de los Hogares realizado por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en 2017, mostró que el porcentaje total de integrantes del hogar de 7 años en adelante con sentimientos de depresión fue de 30.5%, siendo los adultos mayores los más afectados representando un 44.9% de todos los hogares encuestados. (INEGI, 2017).

## Trastorno Depresivo Mayor (TDM)

La duración del síndrome depresivo es muy variable, los síntomas pueden permanecer unos días y en otros casos pueden durar años (depresiones crónicas o persistentes). Combinando la intensidad y duración se han definido diagnósticos principales entre los cuales se encuentra el Trastorno Depresivo Mayor (TDM). El TDM implica un cambio drástico del estado anímico caracterizado por tristeza, ideaciones suicidas e irritabilidad acompañado de cambios psicofisiológicos como perturbaciones del sueño, cambios en el apetito, el lívido, constipación y anhedonia durante un mínimo de dos semanas y que interfieran con buen un desempeño en la vida laboral y cotidiana (Pérez-Padilla et al. 2017).

Hoy en día se tienen diferentes modalidades para tratar el TDM que incluyen medicamentos antidepresivos, psicoterapias y técnicas de estimulación, sin

embargo, se estima que menos de la mitad de los afectados obtienen una remisión total del padecimiento (Belmaker, R. H., & Agam, G. 2008).

Aproximadamente dos tercios de los pacientes con TDM presentan resistencia a todos los tratamientos farmacológicos, manifestándose como la presencia de síntomas depresivos residuales tras el tratamiento y una pérdida de la eficacia del tratamiento a largo plazo. La Depresión Resistente a Tratamiento (*TRD, treatment resistant depression*) es una forma más severa del TDM, que es definida como una no remisión de la sintomatología después de que el paciente recibe al menos dos tratamientos farmacológicos con antidepresivos a dosis y duración adecuada. (Little, A. 2009).

## Genética del TDM

Hoy en día se acepta que la genética está involucrada en el riesgo de padecer TDM. No obstante, todavía no se conoce con certeza cuál es la influencia de la genética vs factores ambientales y cómo interactúan, del mismo modo cuáles son los genes y las vías involucradas para explicar el factor.

Actualmente se acepta un modelo multicausal (interacción entre genes y medio ambiente) para explicar la etiología del TDM, así como de otros trastornos mentales. A pesar de que el TDM es una entidad psiquiátrica ampliamente estudiada, hasta la fecha no se tiene una conceptualización clara sobre las bases biológicas que contribuyen a la aparición y desarrollo de éste. Los estudios de familia y de gemelos fueron de los primeros en empezar a dar evidencia de la contribución de factores genéticos.

Los estudios de familia establecen que la depresión (u otra entidad psiquiátrica) está presente en una familia, sugiriendo la presencia de factores genéticos, mientras que los estudios de gemelos sí permiten discernir entre factores genéticos y ambientales. Un meta análisis de estudios de gemelos muestra que la concordancia genética del TDM es de aproximadamente 37% en gemelos monocigotos, mientras que estudios de familia señalan que puede haber un aumento en el riesgo de heredarlo de 2 o hasta 3 veces en descendencia de primer grado (padres con TDM a hijos) (Sullivan, P et al. 2000). Otros estudios mencionan que la tasa de heredabilidad puede aumentar dependiendo de la gravedad de la sintomatología, la edad de inicio temprana y la reincidencia del trastorno. (McGuffin, P et al. 2007).

Es importante hacer énfasis que la heterogeneidad del TDM en parte está dada por la poligenicidad, es decir, individuos afectados tienen distintas combinaciones de alelos de diversos genes de riesgo. Otro factor importante es la heterogeneidad en sexos de los afectados, en estudios de gemelos se ha observado que el riesgo de padecer TDM es el doble en mujeres monocigotos que en hombres monocigotos



(Kendler, K.S et al. 2001) y que aproximadamente 45% del riesgo genético de padecer TDM no se comparte entre sexos (Østergaard, S. D et al. 2011).

Como ya se ha mencionado, el TDM no es causado por un solo gen, sino que es una entidad psiquiátrica con características genéticas complejas. A pesar de la valiosa información que han aportado los estudios de familia y gemelos, éstos no son suficientes para identificar genes que contribuyen al desarrollo del TDM, Estos sólo pueden descubrirse con estudios de genética molecular.

Hasta la fecha se han encontrado varios factores de riesgo genético específicos que vuelven al individuo más susceptible al TDM. Uno de los más estudiados es la región polimórfica ligada al transportador de serotonina (*5-HTTLPR, serotonin transporter linked polymorphic region*) que afecta la región promotora del gen del transportador de serotonina (*SERT*) lo que ocasiona una menor recaptación de este neurotransmisor a las células presinápticas. Estudios han demostrado que polimorfismos en esta zona confieren una predisposición a trastornos depresivos y de ansiedad. (Lesch, K. P et al. 1996)

En 2013 un mega análisis conducido por el *Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium* (MDD Working Group, 2013) examinó más de 1.2 millones de SNP en 18,759 sujetos de estudio de población europea (9,240 con TDM y 9,519 controles), a pesar del extenso número de datos que analizaron los autores fueron incapaces de identificar hallazgos robustos y replicables debido a la gran heterogeneidad de la depresión. Esta clase de estudios sugiere que la depresión, así como otras entidades psiquiátricas comparten una etiología genética y para diferenciarlas se debe incluir otros enfoques como el estudio de vías epigenéticas que esclarezcan los factores ambientales ya que muchas de estas son en respuesta a eventos adversos.

## Dianas terapéuticas del TDM

La neurobiología estudia el conjunto y organización en circuitos funcionales de los tejidos y estructuras en el Sistema Nervioso. La teoría monoaminérgica de la depresión defiende que ésta se debe a un defecto en el funcionamiento de los sistemas de neurotransmisión monoaminérgicos (neurotransmisores derivados de aminoácidos aromáticos con un grupo amino). Las vías serotoninérgicas y noradrenérgicas tienen su origen muy profundo en el cerebro y se extienden a lo largo de distintas áreas del cerebro, siendo así un sistema capaz de modular el sentir, pensar y nuestro comportamiento. Los fármacos antidepresivos son un grupo heterogéneo que actúan sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) y que potencian la neurotransmisión monoaminérgica (noradrenérgica y serotoninérgica) mediante distintos mecanismos, ya sea bloqueando la recaptación de neurotransmisores, disminuyendo su degradación o por acción sobre autorreceptores presinápticos. (Fatemi, S. H., & Clayton, P. J., 2016)

Los primeros antidepresivos estaban diseñados para bloquear la recaptación de serotonina y norepinefrina en la neurona presináptica aumentando la biodisponibilidad de estos neurotransmisores en la sinapsis y estimulando las neuronas postsinápticas. (Taciak, P et al. 2018). Entre los fármacos inhibidores de la recaptura de serotonina se encuentra la Fluoxetina, sin embargo, su eficacia depende de la variabilidad interindividual que se tiene al medicamento. Es un fármaco de estructura bicíclica perteneciente a las fenoxifenilpropanaminas. Se han propuestos diferentes vías por las cuales reduce la sintomatología característica de la depresión, ya sea aumentando la plasticidad neuronal con mayores niveles del factor neurotrófico derivado del cerebro (*BDNF*), inhibiendo la recaptación de serotonina de la neurona presináptica o reduciendo la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. No obstante, gracias a avances en las neurociencias, existe nueva evidencia epigenética que sugieren que el efecto antidepresivo tanto de la fluoxetina como de otros inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (*ISRS*) crean una ventana de oportunidad para un cambio en el estado anímico impulsado por la calidad del ambiente bajo el cual la persona se desenvuelve (Alboni, S., van Dijk, R. et al. 2017).

Otras dianas terapéuticas son la enzima Monoamina Oxidasa (MAO) que también se han asociado a efectos antidepresivos, esta enzima cataboliza la norepinefrina y la serotonina en sus respectivas vías en las neuronas presinápticas. Estudios más recientes muestran que las isoformas de la enzima Triptófano Hidroxilasa denominada (TPH) que forma parte de la ruta biosintética de la serotonina juega un papel importante en el desarrollo del TDM. Las isoformas de la enzima son dos: TPH1 y TPH2, ambas pertenecen a la superfamilia de hidroxilasas aromáticas de aminoácidos que también incluye otras como tirosina hidroxilasa (TH) y fenilalanina hidroxilasa (PAH). A diferencia de TPH1 que se expresa en tejidos periféricos, TPH2 se expresa principalmente en neuronas de las vías serotoninérgicas que se originan en el núcleo de Rafé. (Ping, L. et al. 2019) y esta enzima es la limitante de la velocidad en la síntesis de serotonina a partir del aminoácido triptófano. El gen que codifica a la enzima se denomina *TPH2*. En los humanos, la localización cromosómica del gen es 12q21.1. El gen posee 13 exones (Zhang, X. et al. 2005).

## Farmacogenética del TDM

La farmacogenética es la ciencia que permite identificar las bases genéticas de las diferencias interindividuales en la respuesta a medicamentos. Su aplicación en la práctica clínica permite hacer una medicina personalizada acortando los tiempos de respuesta y disminuyendo los efectos adversos de terapias farmacológicas (Ortiz, L. et al 2012). La medicina personalizada se ha convertido en un área de investigación y desarrollo clínico, especialmente en el TDM por la falta de respuesta

al tratamiento o remisión incompleta de su sintomatología. La información genética proporciona orientación adicional en la elección del tratamiento más adecuado para el paciente. Estos estudios tienen como objetivo identificar los genes candidatos asociados con la respuesta antidepressiva a los fármacos. Uno de los grandes retos es establecer biomarcadores que permitan evaluar la presencia de genes asociados a la depresión dado que el modo de herencia es complejo, involucrando una gran cantidad de *loci*, a veces en genes distintos, con efectos aditivos y factores ambientales involucrados. (Fabbri, C & Serreti, A. 2020)

Para superar estos obstáculos se tienen diferentes estrategias como estudios de genes candidatos y estudios de asociación de genoma completo (*GWAS*, *Genome Wide Association Studies*) que utiliza grandes cantidades de SNP (entre 500,000 y 1 millón) para hacer un barrido en todo el genoma y encontrar alelos que influyen en un fenotipo o rasgo de interés. Mientras que en el *GWAS* una variante debe pasar un umbral para poder asociarse a un fenotipo, se utilizan puntuaciones de riesgo poligénico (*PRS*, *polygenic risk scores*) que estiman el efecto aditivo de alelos de diversas variantes, esto permite asociar diferentes alelos que no tendrían significancia o bien, poca evidencia de asociación con un fenotipo si se estudian solos, pero pueden tener un mayor efecto cuando se toman en cuenta colectivamente (García-González, J et al 2017).

Se pueden dar dos enfoques a los estudios farmacogenéticos, uno farmacocinético que estudia los genes de proteínas que participan en el estudio de los fármacos; y el farmacodinámico que estudia los blancos terapéuticos sobre los cuales actúa el fármaco. Si lo que se quiere es conocer los genes asociados a la farmacocinética de los antidepressivos, los más estudiados son los del citocromo P450, la cual codifica para más de 50 enzimas para el metabolismo de fármacos antidepressivos entre las que destaca *CYP2D6* y *CYP2C19*. También incluye el gen *MDR1* o *ABCB1* que codifica para la glicoproteína P, proteína perteneciente a la superfamilia de cassette de unión a ATP (*ATP-Binding Cassette*) que tiene una función transportadora de fármacos a través de la membrana celular. Los genes más estudiados asociados a los procesos farmacodinámicos incluyen el transportador de serotonina (*SLC64A*, *SERT*, *5-HTT*), *BDNF*, Proteínas G y de biosíntesis (*TPH1* y *TPH2*) (Schosser A & Kasper, S. 2009).

La gran mayoría de estos estudios se llevan a cabo en pacientes adultos y hay evidencia que afirma que la edad no influye en la farmacogenética de los antidepressivos (Blázquez, A et al. 2016). Los *GWAS* han permitido asociar muchos SNP a la respuesta antidepressiva de fármacos, sin embargo, muchas veces los resultados son inconclusos debido a un limitado tamaño de muestra y la heterogeneidad en el diseño de estudios lo cual conlleva a una falta de replicación de éstos. Para poder solucionar estos problemas metodológicos, una alternativa es estrechar la búsqueda mediante un “análisis de vías metabólicas”, el cual se basa

en el análisis de variantes genéticas de genes involucrados en una misma ruta biológica o metabólica, es así como en la biosíntesis de la serotonina se encuentran genes como: *MTHFR*, *MAOA*, *SLCA4*, *HTR1A*, *TPH1* y *TPH2*. (Jia, P et al 2011).

### Depresión Resistente a tratamiento (DRT)

Se define a la DRT como casos de TDM que no han respondido de manera adecuada mediante la no remisión de la sintomatología de al menos dos ensayos de antidepresivos en dosis y duración adecuada (Little, A. 2009). A diferencia del TDM, la DRT tiene consecuencias bio-psico-sociales y económicas más graves y requiere una atención médica más estricta (Mrazek D.A. et al. 2014). No se sabe mucho acerca de lo que distingue a aquellos pacientes que no responden a tratamientos antidepresivos de aquellos que sí responden, hay estudios que sugieren que la aparición de estrés a temprana edad está asociada a presentar resistencia a tratamientos (Williams et al. 2016).

Una de las principales metas de los investigadores es establecer definiciones más concretas y basadas en evidencias biológicas para la DRT. La caracterización biológica de la heterogeneidad de la DRT es necesaria

La información genética cobra relevancia ya que sirve como una guía adicional para la elección del tratamiento más adecuado. Las variantes genéticas se empezaron a asociar con la DRT debido a información que arrojaron estudios de familia que demostraron que existen factores genéticos involucrados en la respuesta antidepresiva. Los factores genéticos y el historial médico de cada integrante son criterios que hasta la fecha se siguen implementando al tomar la mejor decisión terapéutica (Zetin, M. et al. 2006). En la última década varios investigadores han puesto un gran esfuerzo para determinar los predictores de la DRT. Entre los marcadores farmacogenéticos, los SNP han proporcionado información relacionada a la respuesta a tratamiento, especialmente aquellos involucrados en todo el sistema serotoninérgico junto con otros, resaltando genes como la *COMT*, *CREB*, *ABCB1* y *BDNF* (Kautzky, A et al. 2015). A pesar de que se han asociado muchos SNPs, si son tomados individualmente no son suficientes para determinar el riesgo de presentar resistencia a tratamiento. Tomando en cuenta la etiología multicausal del TDM, la DRT sería consecuencia de la interacción de diferentes factores de riesgo (Fang & Wu. 2019).

Entre los SNPs más investigados en la DRT se encuentra el *rs25531* del gen *SLC64A*, *rs6295* del gen *HTR1A*, *rs6298* del gen *HTR1B*, *rs4680* de *COMT*, *rs6295* de *BDNF*, *rs2032582* del gen *ABCB1*, *rs1800532* del gen *TPH1*, *rs7305115*, *rs7305115* y el *rs4290270* para *TPH2* (Fabbri, C et al 2014).

La farmacogenética de los antidepresivos todavía no ha producido ningún conocimiento aplicable sobre la práctica clínica habitual, ya que los resultados todavía son inconsistentes entre estudios. Recientemente, se han realizado estudios mediante el enfoque del GWAS y metodologías innovadoras como el transcriptoma y la proteómica para poder integrar la información que en un futuro favorezca al paciente de forma individualizada.

## Variantes genéticas del gen *TPH2*

Diversas investigaciones han asociado variantes de un solo nucleótido (SNP) en el gen *TPH2* y trastornos psiquiátricos como el trastorno bipolar y TDM.

En el presente trabajo se evaluarán tres variantes de un solo nucleótido. La primera a estudiar es la variante rs4570625 el cual consiste en un cambio de guanina por timina en la posición 4298 (g.4298G>T), a nivel proteico es el cambio de un residuo de glicina por uno de treonina en la posición 703 del polipéptido (p.G703T) y es una variante intergénica. Su frecuencia alélica en población mexicana, de acuerdo con *Population Architecture using Genomics & Epidemiology (PAGE)*, es de G=0.64 y T=0.36 con una muestra de 10,804 individuos. Se ha asociado esta variante con la respuesta a citalopram, en adultos y adolescentes con trastorno depresivo mayor y ansiedad (Rotberg, B, et al. 2013). La segunda variante es el rs10879346, la cual es una variante intrónica y consiste en el cambio de citocina por timina en la posición 24,210 de C >T (g. 24219C>T), la frecuencia alélica es de C= 0.50 y T=0.50. Es una variante sinónima a nivel proteico para el aminoácido de prolina (p.Pro312Pro). Se ha asociado el alelo T a una mayor resistencia a los antidepresivos (Tzvetkov et al 2008). La última es una variante sinónima (rs4290270) que constituye un cambio de adenina por timina (g.88610 A>T). No está reportada su frecuencia en México. Esta variante se ha asociado a distintos trastornos psiquiátricos, dependencia a metanfetaminas, alcoholismo, insomnio y depresión (Ottenhof, K. W et al. 2018).

## Planteamiento del problema y Justificación

Existen variantes en el gen *TPH2* que han sido asociadas a una resistencia al tratamiento con fluoxetina. Hay evidencia que sugiere que alrededor del 30-50% de los pacientes que no presentan una respuesta favorable o simplemente no responden a tratamiento con ISRS (Zhang, X. 2005). La respuesta a la fluoxetina depende, en gran parte, a la variabilidad genética interindividual. Tomando en cuenta la alta tasa de incidencia de depresión y otros trastornos en México, se ha decidido llevar a cabo estudios de asociación de 3 variantes del gen *TPH2* en

poblaciones mexicanas para determinar si éstas se asocian con la resistencia al tratamiento con fluoxetina.

## Hipótesis

Las tres variantes para analizar del gen *TPH2* estarán en desequilibrio de ligamiento y asociadas a la Depresión Resistente a Tratamiento (DRT).

## Objetivo General:

Analizar la asociación entre las variantes del gen *TPH2* y pacientes con depresión resistente a tratamiento con fluoxetina en población mexicana.

## Objetivos Específicos:

- Analizar la frecuencia de genotipos y alelos de polimorfismos rs4570625, rs10879346 y rs4290270 del gen *TPH2* entre pacientes con DRT y pacientes respondedores a fluoxetina.
- Analizar la asociación por haplotipos entre las variantes del gen *TPH2* y pacientes con DRT comparado con pacientes respondedores a fluoxetina.

## Materiales y Métodos.

### Selección de la muestra

El estudio incluyó un total de 137 pacientes mexicanos diagnosticados con Trastorno Depresivo Mayor con base en DSM-5 obtenidos en el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz. Las muestras se agruparon en dos grupos, el primero son pacientes con DRT (n=37) y un grupo de comparación de pacientes respondedores a fluoxetina (n=100).

### Extracción de DNA genómico (DNAg)

Se obtuvo DNAg proveniente de leucocitos de sangre periférica. Mediante venopunción se obtuvo la muestra de sangre y se almacenó en tubos Vacutainer con EDTA como agente anticoagulante hasta su uso almacenadas a 2°C. Las muestras se homogenizaron y centrifugaron a 2000 G por 10 minutos a 4°C. Se empleó la técnica de *buffy coat* utilizando un kit (Flexigene DNA Kit de QUIAGEN) con el cual se pudo realizar la lisis química de membranas y eliminar contaminantes proteicos y lipídicos. Una vez purificado el DNA se lavó con isopropanol y

posteriormente con etanol al 70% para poder eliminar contaminantes polares como sales y precipitar el DNA. El etanol se decantó y evaporó usando una centrifuga a vacío a 60°C por 20 minutos dejando un *pellet* de DNAg. El *pellet* se resuspendió con la cantidad pertinente de *buffer* TE y se almacenó para su cuantificación a -20°C.

### **Cuantificación de DNAg**

La evaluación cuantitativa del DNAg se llevó a cabo usando un Nanofotómetro N60/N50 con longitud de onda ajustada a 260nm. Se tomó 2µL de la muestra a analizar y se evaluó la concentración en ng/ µL y su pureza mediante la razón A260/280 y A260/230 que indican la contaminación por proteínas y sales u otros reactivos orgánicos respectivamente. Un valor entre 1.8 y 2 de la razón A260/280 indican una buena pureza, mientras que para A260/230 si ésta es menor a 1.8 indica presencia de contaminantes. Una vez determinada su concentración y pureza, se llevó a cabo las diluciones para dejar la muestra a una concentración de 100 ng/ µL para su genotipificación.

### **Genotipificación**

La genotipificación se llevó a cabo mediante una PCR en tiempo real. El equipo utilizado fue *7500 Real Time PCR System, Software SDS v2.1 (Applied Biosystems)*. Se ocupó sondas Taqman para las variantes rs4570625 (C\_226207\_10), rs10879346 (C\_31110866\_10) y rs4290270 (C\_26385365\_10). Los fluoróforos utilizados para la discriminación alélica fueron VIC/FAM. El volumen final de reacción fue de 7µL conteniendo DNAg 100ng/ µL, 1X *Taqman Universal Master Mix II (QUIAGEN)* y 0.71X de sonda Taqman (*Applied Biosystems*). Se dejó un pozo como control negativo con 7 µL con todos los componentes excepto DNAg. El termociclador se ajustó a 40 ciclos y las condiciones de amplificación fueron: 95°C para la desnaturalización del DNA genómico, 60°C por un minuto para la alineación de *primers* y 72°C para la extensión.

### **Análisis estadístico**

Se determinaron las frecuencias alélicas y genotípicas de los pacientes mediante la prueba de Chi cuadrada ( $\chi^2$ ) con tablas de contingencia de 2x3 y 2x2 utilizando el programa Epidat v3.1. Se tomó un valor de  $p < 0.05$  para afirmar o rechazar la hipótesis nula. Posteriormente, se ajustó el valor P mediante la corrección de Bonferroni con un nivel de significancia estadística de  $p < 0.016$ .

Para el análisis de la presencia de desequilibrio de ligamiento (*Linkage Disequilibrium*) se utilizó el parámetro de desviación esperada por el azar ( $D'$ ) y el coeficiente de correlación de Pearson ( $r^2$ ) entre las regiones de cada gen analizado empleando el programa Haploview v4.2.

## Resultados

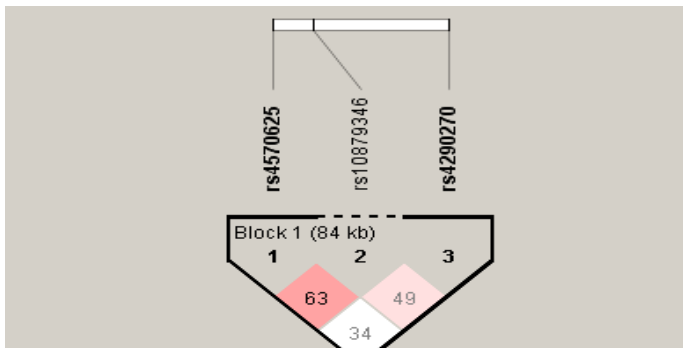
El análisis de la frecuencia de genotipos y alelos se describe en la Tabla 1. Se puede observar que el polimorfismo rs10879346 analizado fue el que obtuvo una alta significancia estadística, por lo tanto, ser portador del genotipo CC está asociado con la respuesta a fluoxetina.

**Tabla 1. Frecuencia de genotipos y alelos del gen *TPH2*.**

SNP	RFLX (n=100)	RT (n=37)	Estadística (Genotipos; Alelos)
rs4570625			
GG	57 (0.57)	16 (0.43)	$\chi^2=5.24$ , 2gl, $p=0.07$ ; $\chi^2=3.48$ , 1gl, $p=0.06$
GT	41 (0.41)	17 (0.46)	
TT	2 (0.02)	4 (0.11)	
G	155 (0.77)	49 (0.66)	
T	45 (0.23)	25 (0.34)	
rs10879346			
CC	77 (0.78)	7 (0.19)	$\chi^2=50.17$ , 2gl, $p=0.0000$ ; $\chi^2=34.13$ , 1gl, $p=0.0000$
CT	4 (0.04)	18 (0.49)	
TT	17 (0.18)	12 (0.32)	
C	158 (0.81)	32 (0.43)	
T	38 (0.19)	42 (0.57)	
rs4290270			
AA	40 (0.40)	7 (0.19)	$\chi^2=5.72$ , 2gl, $p=0.057$ ; $\chi^2=4.42$ , 1gl, $p=0.035$
AT	43 (0.43)	21 (0.57)	
TT	17 (0.17)	9 (0.24)	
A	123 (0.62)	35 (0.48)	
T	77 (0.38)	39 (0.52)	

**SNP: Single Nucleotide Polymorphism, RFLX: Respondedores a Fluoxetina, DRT: Resistente a tratamiento, gl: grados de libertad, p: valor de significancia estadística.**

El análisis por haplotipos no mostró desequilibrio de ligamiento, es decir, las variantes no se transmiten de manera conjunta y por lo tanto no se pudo realizar un análisis por haplotipos. (ver Figura 1.)



**Figura 1. Estructura de bloques en DL de variantes**

**Del gen *TPH2*. El número en el diamante hace referencia**

**Al parámetro  $D'$  cada uno de los polimorfismos analizados.**

**Si el número es  $> 80$  las variantes están en DL de forma que**

**Éstas pueden generar haplotipos.**



## Discusión de resultados.

El gen *TPH2* se ha investigado mucho en relación con la morbilidad psiquiátrica, Willem et al. (2018) hicieron una revisión de 166 artículos de los cuales 20 eran del gen *TPH2* en TDM. Zill et al. (2004) llevaron a cabo un estudio de asociación entre el gen *TPH2* y el TDM el cual utilizó un total de 300 casos y 265 controles sanos caucásicos, de sus 10 variantes estudiadas del gen solo una mostró correlación el TDM. Siendo estos estudios los que mostraron evidencia de la participación de este gen en el desarrollo del TDM.

En los últimos años ha crecido la evidencia de que no solo el gen *TPH2* está asociado al desarrollo del TDM, sino que también juega un papel en la DRT, a fluoxetina y otros psicofármacos. En un estudio de variantes del gen *TPH2* asociado a respuesta antidepresiva con distintos fármacos en 182 individuos, Tzvektov et al. (2008) encontraron que, entre sus variantes, el rs10897346, misma variante analizada en este trabajo, es un predictor independiente de la respuesta a antidepresivos, siendo el genotipo CC y alelo C los que mostraron una mayor respuesta al tratamiento antidepresivo. Similarmente también estudió el rs4570625 y esta no mostró significancia estadística o asociación con la respuesta a tratamiento y ambas variantes no se encontraron en desequilibrio de ligamiento en su estudio, lo cual coincide con lo encontrado en el presente trabajo.

El tercer polimorfismo, el rs4290270 ha sido reportado en el estudio de Houston et al, 2012 en el cual analizaron 134 pacientes con TDM divididos en grupos con tratamiento con fluoxetina y olanzapina y una combinación de ambos comparándolos con pacientes no respondedores. El polimorfismo se vio asociado a la respuesta a antidepresivos en pacientes tratados con una combinación de fluoxetina-olanzapina, mas no se encontró asociación con el tratamiento con pura fluoxetina. Esto concuerda con el presente estudio, ya que el mismo polimorfismo no salió asociado en el grupo de respondedores a fluoxetina. Esto deja en evidencia la necesidad de incluir diversos grupos de análisis al estudio para tener una mayor robustez en los resultados. En general, esta variante no ha sido tan estudiada en relación con la respuesta antidepresiva, hay estudios más enfocados a otros trastornos como el alcoholismo en donde los genotipos AT y TT tienen mayor riesgo a padecer alcoholismo según Sobczyk-Kopciol et al. 2011 y a conductas agresivas (Plemenitas, A et al. 2015) en donde encontraron que los genotipos AT y AA están más asociados a tener conductas agresivas y dependencia al alcohol que individuos con genotipo TT.

El gen *TPH2* codifica para la enzima limitante de la velocidad en la biosíntesis de la serotonina, esto lo hace ser un gen candidato en el estudio de la farmacogenética de la respuesta antidepresiva. Shishkina et al (2007) reportaron en ratas *Wistar* que

un tratamiento prolongado con fluoxetina está asociado con una regulación a la alta del mRNA de *TPH2* lo cual sucede simultáneamente con el efecto antidepresivo. Igualmente reportaron que el rs4570625 estaba asociada con una mejora clínica tras el tratamiento con fluoxetina, en particular los individuos homocigotos TT. No obstante, en un estudio de un meta-análisis como el de Gao et al. (2012) que analiza más de 70 variantes del gen *TPH2* incluyendo esta última, reporta que los individuos portadores del alelo T estaban asociados a una mayor depresión y al desarrollo de otras condiciones como ataques de pánico. Se requieren de más estudios para aclarar más aspectos del efecto de esta variante en la región promotora del gen.

La segunda variante, el rs10879346, fue la única que salió estadísticamente asociada con la respuesta a fluoxetina, siendo los individuos con el genotipo CC y alelo C los que mostraron mayor asociación. Esto concuerda con el estudio llevado a cabo por Tzvektov et al, 2008 en donde encontraron significancia estadística con este polimorfismo al comparar distintos grupos de respondedores a medicamentos antidepresivos (ISRS, Mirtazapina, tricíclicos, venlafaxina y combinación de los anteriores) y un grupo control no respondedor. El polimorfismo fungió como predictor independiente de la respuesta a fluoxetina. De la misma forma Zhang et al (2004) confirmaron que ratones que tenían variantes del gen *TPH2* (entre ellas que disminuían la función del gen presentaban menores niveles de producción de serotonina al igual que una menor respuesta a fármacos inhibidores de la recaptación de serotonina (*ISRS*) en la línea celular PC12. Este dato reportado en la población caucásica se replica en el presente estudio con población mexicana. Esta variante tiene un alto potencial de ser un marcador farmacogenético para la respuesta antidepresiva.

Los tres polimorfismos estudiados no se encontraron en desequilibrio de ligamiento, esto puede deberse a que las tres variantes se encuentran ubicadas a grandes distancias, siendo la distancia entre variables genéticas uno de los factores que afecta el desequilibrio de ligamiento (Ardlie. K. G et al. 2002). El hecho de que las variables no se hayan encontrado en desequilibrio de ligamiento no significa que no jueguen un papel importante como marcadores genéticos asociados a la respuesta a fluoxetina u otros antidepresivos. Existe un fenómeno de mucha importancia en la genética psiquiátrica llamado pleiotropía, es cuando un locus o variante es responsable o influye en el desarrollo de diferentes rasgos o características (fenotipos) He & Zhang (2006). Esto ha sido respaldado por estudios de GWAS que han logrado identificar múltiples variantes que afectan distintos rasgos.

## Limitaciones del estudio

Una de las principales limitaciones del presente estudio es conseguir pacientes que hayan reportado una DRT. A pesar de que la depresión es uno de los trastornos más comunes en México y el mundo, el tamaño de la muestra no fue lo suficientemente efectivo para mostrar una relación entre las tres variantes del gen *TPH2* con el desarrollo de la DRT.

Igualmente, otra de las limitaciones del presente trabajo fue los grupos de estudios comparativos de las tres variantes entre respondedores a fluoxetina contra los ultrarresistentes. Esto redujo considerablemente el alcance del estudio. Para un mayor robustez e integración de la información genética sería recomendable añadir otros grupos al estudio, como podría ser un grupo de gente sana y otros respondedores a distintos antidepresivos para ver cómo se comportan las variantes entre grupos más heterogéneos y qué resultados arrojarían esas comparaciones.

## Perspectivas

Para poder reunir más información acerca del impacto que tiene el gen *TPH2* en la respuesta a fluoxetina se tendría que ampliar el número de *SNPs* estudiados ya que se tienen muchas variantes reportadas de este gen y al aumentar el número se puede ampliar el panorama y estudiar otras variantes están asociadas que pudieran estar asociadas a una falta de respuesta a medicamentos.

El estudio de las entidades psiquiátricas es muy complejo puesto que estos trastornos son multicausales por lo que ampliar no solo las variantes estudiadas en un mismo gen, sino en otros genes para ver de qué forma están relacionadas como lo reporta Mas et al. (2016) en su estudio en el cual incluyeron variantes de más de 40 genes involucrados en la farmacogenética de las vías serotoninérgicas. Al igual incorporar otras disciplinas como estudios de Gen x ambiente y estudios de epigenética para tener un panorama más amplio.

## Conclusiones

- El gen *TPH2* no está asociado a la DRT, mas sí a la repuesta a fluoxetina.
- Los tres polimorfismos estudiados no están en desequilibrio de ligamiento y no forman haplotipos.
- El genotipo CC del rs10879346 está asociada con una mejor respuesta a fluoxetina comparado con pacientes con DRT

## Agradecimientos

Quiero agradecer a la Dra. Beatriz Camarena Medellín del departamento de Farmacogenética del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz por darme la oportunidad de realizar mi servicio social en su laboratorio y por todo el aprendizaje que me brindó su equipo.

A la Dra. Ana Laura Esquivel Campos por asesorarme en el desarrollo de la tesis.

## Bibliografía consultada

- 1 Asociación Estadounidense de Psiquiatría (2014). Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (**DSM-5**) (Quinta edición). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- 2 World Health Organization. (2017). *Depression and other common mental disorders: global health estimates* (No. WHO/MSD/MER/2017.2). World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf>
- 3 Kuehner, C. (2017). Why is depression more common among women than among men? *The Lancet Psychiatry*, 4(2), 146–158
- 4 Kessler, R. C., Angermeyer, M., Anthony, J. C., De Graaf, R. O. N., Demyttenaere, K., Gasquet, I., ... & Kawakami, N. (2007). Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of mental disorders in the World Health Organization's World Mental Health Survey Initiative. *World psychiatry*, 6(3), 168.
- 5 Instituto Nacional de Estadística y Geografía, *Encuesta Nacional de los Hogares* (2017) Disponible en: [https://www.inegi.org.mx/contenidos/programas/enh/2017/doc/enh2017\\_resultados.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/programas/enh/2017/doc/enh2017_resultados.pdf)
- 6 Pérez-Padilla, E. A., Cervantes-Ramírez, V. M., Hijuelos-García, N. A., Pineda-Cortés, J. C., & Salgado-Burgos, H. (2017). Prevalencia, causas y tratamiento de la depresión Mayor. *Revista biomédica*, 28(2), 73-98.
- 7 Belmaker, R. H., & Agam, G. (2008). *Major Depressive Disorder*. *New England Journal of Medicine*, 358(1), 55–68.
- 8 Little, A. (2009). Treatment-resistant depression. *American Family Physician*, 80(2), 167-172.

- 9** Sullivan, P. F., Neale, M. C., & Kendler, K. S. (2000). Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *American Journal of Psychiatry*, *157*(10), 1552-1562.
- 10** McGuffin P, Cohen S, Knight J. Homing in on depression genes. *Am J Psychiatry* 2007; *164*(2): 195-7.
- 11** Kendler, K. S., Gardner, C. O., Neale, M. C., & Prescott, C. A. (2001). *Genetic risk factors for major depression in men and women: similar or different heritabilities and same or partly distinct genes?* *Psychological Medicine*, *31*(04). doi:10.1017/s0033291701003907
- 12** Østergaard, S. D., Jensen, S. O. W., & Bech, P. (2011). The heterogeneity of the depressive syndrome: when numbers get serious. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *124*(6), 495–496. doi:10.1111/j.1600-0447.2011.01744.x
- 13** Lesch, K. P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S. Z., Greenberg, B. D., Petri, S., ... & Murphy, D. L. (1996). Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*, *274*(5292), 1527-1531.
- 14** Cross-Disorder Group of the Psychiatric Genomics Consortium (2013) Identification of risk loci with shared effects on five major psychiatric disorders: a genome-wide analysis. *Lancet* *381*:1371–1379.
- 15** Fatemi, S. H., & Clayton, P. J. (Eds.). (2016). *The Medical Basis of Psychiatry*. doi:10.1007/978-1-4939-2528-5
- 16** Taciak, P. P., Lysenko, N., & Mazurek, A. P. (2018). Drugs which influence serotonin transporter and serotonergic receptors: pharmacological and clinical properties in the treatment of depression. *Pharmacological Reports*, *70*(1), 37-46.
- 17** Alboni, S., van Dijk, R., Poggini, S. *et al.* (2017). Fluoxetine effects on molecular, cellular and behavioral endophenotypes of depression are driven by the living environment. *Mol Psychiatry* **22**, 552–561.
- 18** Zhang, X., Gainetdinov, R. R., Beaulieu, J.-M., Sotnikova, T. D., Burch, L. H., Williams, R. B., ... Caron, M. G. (2005). *Loss-of-Function Mutation in Tryptophan Hydroxylase-2 Identified in Unipolar Major Depression*. *Neuron*, *45*(1), 11–16.
- 19** Rotberg, B., Kronenberg, S., Carmel, M., Frisch, A., Brent, D., Zalsman, G., ... Weizman, A. (2013). *Additive Effects of 5-HTTLPR (Serotonin Transporter) and Tryptophan Hydroxylase 2 G-703T Gene Polymorphisms on the Clinical Response to Citalopram among Children and Adolescents with Depression and Anxiety Disorders*. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*, *23*(2), 117–122. doi:10.1089/cap.2012.0020
- 20** Tzvetkov, M. V., Brockmüller, J., Roots, I., & Kirchheiner, J. (2008). *Common genetic variations in human brain-specific tryptophan hydroxylase-2 and response to antidepressant treatment*. *Pharmacogenetics and Genomics*, *18*(6), 495–506. doi:10.1097/fpc.0b013e3282fb02cb
- 21** Ottenhof, K. W., Sild, M., Lévesque, M. L., Ruhé, H. G., & Booij, L. (2018). *TPH2 polymorphisms across the spectrum of psychiatric morbidity: A systematic review and meta-analysis*. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *92*, 29–42. doi:10.1016/j.neubiorev.2018.05.018
- 22** Ortiz, L. L., & Tabak, N. R. (2012). Farmacogenómica en la práctica clínica. *Revista Médica Clínica Las Condes*, *23*(5), 616-621.
- 23** Fabbri, C., & Serretti, A. (2020). Genetics of treatment outcomes in major depressive disorder: present and future. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, *18*(1), 1.

- 24** García-González, J., Tansey, K. E., Hauser, J., Henigsberg, N., Maier, W., Mors, O., ... Fabbri, C. (2017). *Pharmacogenetics of antidepressant response: A polygenic approach. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 75, 128–134. doi:10.1016/j.pnpbp.2017.01.011
- 25** Schosser, A., & Kasper, S. (2009). The role of pharmacogenetics in the treatment of depression and anxiety disorders. *International Clinical Psychopharmacology*, 24(6), 277–288. doi:10.1097/yic.0b013e3283306a2f
- 26** Mas, S., Blázquez, A., Rodríguez, N., Boloc, D., Lafuente, A., Arnaiz, J. A., ... & Gassó, P. (2016). Pharmacogenetic study focused on fluoxetine pharmacodynamics in children and adolescent patients: impact of the serotonin pathway. *Pharmacogenetics and genomics*, 26(11), 487-496.
- 27** Jia, P., Wang, L., Meltzer, H. Y., & Zhao, Z. (2011). Pathway-based analysis of GWAS datasets: effective but caution required. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 14(4), 567–572. doi:10.1017/s1461145710001446
- 28** Mrazek, D. A., Hornberger, J. C., Altar, C. A., & Degtiar, I. (2014). A review of the clinical, economic, and societal burden of treatment-resistant depression: 1996–2013. *Psychiatric services*, 65(8), 977-987.
- 29** Williams, L. M., Debattista, C., Duchemin, A.-M., Schatzberg, A. F., & Nemeroff, C. B. (2016). *Childhood trauma predicts antidepressant response in adults with major depression: data from the randomized international study to predict optimized treatment for depression. Translational Psychiatry*, 6(5), e799–e799. doi:10.1038/tp.2016.61
- 30** Zetin, M., Hoepner, C. T., & Bjornson, L. (2006). Rational antidepressant selection: applying evidence-based medicine to complex real-world patients. *Psychopharmacology bulletin*, 39(1), 38.
- 31** Kautzky, A., Baldinger, P., Souery, D., Montgomery, S., Mendlewicz, J., Zohar, J., ... Kasper, S. (2015). *The combined effect of genetic polymorphisms and clinical parameters on treatment outcome in treatment-resistant depression. European Neuropsychopharmacology*, 25(4), 441–453. doi:10.1016/j.euroneuro.2015.01.001
- 32** Fang, Y., & Wu, Z. (2019). Advance in Diagnosis of Depressive Disorder. In *Depressive Disorders: Mechanisms, Measurement and Management* (pp. 179-191). Springer, Singapore.
- 33** Fabbri, C., Porcelli, S., & Serretti, A. (2014). *From Pharmacogenetics to Pharmacogenomics: The Way toward the Personalization of Antidepressant Treatment. The Canadian Journal of Psychiatry*, 59(2), 62–75. doi:10.1177/070674371405900202
- 34** Ottenhof, K. W., Sild, M., Lévesque, M. L., Ruhé, H. G., & Booij, L. (2018). TPH2 polymorphisms across the spectrum of psychiatric morbidity: A systematic review and meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 92, 29-42.
- 35** Zill, P., Baghai, T. C., Zwanzger, P., Schüle, C., Eser, D., Rupprecht, R., ... & Ackenheil, M. S. N. P. (2004). SNP and haplotype analysis of a novel tryptophan hydroxylase isoform (TPH2) gene provide evidence for association with major depression. *Molecular psychiatry*, 9(11), 1030-1036.
- 36** Tzvetkov, M. V., Brockmüller, J., Roots, I., & Kirchheiner, J. (2008). Common genetic variations in human brain-specific tryptophan hydroxylase-2 and response to antidepressant treatment. *Pharmacogenetics and genomics*, 18(6), 495-506.
- 37** Houston, J. P., Lau, K., Aris, V., Liu, W., Fijal, B. A., Heinloth, A. N., & Perlis, R. H. (2012). Association of common variations in the norepinephrine transporter gene with response to olanzapine-fluoxetine combination versus continued-fluoxetine treatment in patients with treatment-resistant depression: a candidate gene analysis. *The Journal of clinical psychiatry*, 73(6), 878-885.

- 38** Sobczyk-Kopciol, A., Broda, G., Wojnar, M., Kurjata, P., Jakubczyk, A., Klimkiewicz, A., & Ploski, R. (2011). Inverse association of the obesity predisposing FTO rs9939609 genotype with alcohol consumption and risk for alcohol dependence. *Addiction*, *106*(4), 739-748.
- 39** Plemenitaš, A., Plesničar, B. K., Kastelic, M., Porcelli, S., Serretti, A., & Dolžan, V. (2015). Genetic variability in tryptophan hydroxylase 2 gene in alcohol dependence and alcohol-related psychopathological symptoms. *Neuroscience Letters*, *604*, 86-90.
- 40** Shishkina, G. T., Kalinina, T. S., & Dygalo, N. N. (2007). Up-regulation of tryptophan hydroxylase-2 mRNA in the rat brain by chronic fluoxetine treatment correlates with its antidepressant effect. *Neuroscience*, *150*(2), 404-412.
- 41** Gao, J., Pan, Z., Jiao, Z., Li, F., Zhao, G., Wei, Q., ... & Evangelou, E. (2012). *TPH2* gene polymorphisms and major depression—a meta-analysis. *PloS one*, *7*(5), e36721.
- 42** Ardlie, K. G., Kruglyak, L., & Seielstad, M. (2002). Patterns of linkage disequilibrium in the human genome. *Nature Reviews Genetics*, *3*(4), 299-309.
- 43** He, X., & Zhang, J. (2006). Toward a molecular understanding of pleiotropy. *Genetics*, *173*(4), 1885-1891.