

**EL PAPEL DE POLIMORFISMOS DEL GEN *COMT* EN LA  
SUSCEPTIBILIDAD A LA DEPRESIÓN MAYOR**

**Carlos M. Restrepo, MD, PhD. Director**  
**Dora Janeth Fonseca, MD, MSc, PhD(c) Codirectora**

**Laura del Pilar Rico Landazábal, MD, MSc(a)**

**UNIVERSIDAD DEL ROSARIO**  
**ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD**  
**BOGOTA**  
**2014**

# TABLA DE CONTENIDO

<b>1. RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>8</b>
<b>3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE</b>	<b>10</b>
3.1. Trastornos del estado de ánimo	10
3.1.1. Definición y clasificación de los trastornos de estado de ánimo	10
3.1.2. Trastornos depresivos	10
3.1.2.1. Trastorno depresivo mayor (TDM)	10
3.1.2.2. Trastorno distímico (TDT)	10
3.1.2.3. Trastorno depresivo no especificado (TDNE)	10
3.1.3. Trastornos bipolares	11
3.1.3.1. Trastorno bipolar I (TBP-I)	11
3.1.3.2. Trastorno bipolar II (TBP-II)	11
3.1.3.3. Trastorno ciclotímico (TCT)	11
3.1.3.4. Trastorno bipolar no especificado (TBNE)	11
3.1.4. Otros trastornos del estado de ánimo	11
3.1.5. Frecuencia de los trastornos del estado de ánimo	12
3.2. Trastorno depresivo mayor (TDM)	12
3.2.1. Etiología de trastorno depresivo mayor	13
3.2.2. Fisiopatología de la Depresión	15
3.2.3. Tratamiento de los Trastornos Depresivo Mayor	18
3.3. Depresión y gen <i>COMT</i>	19
<b>4. OBJETIVOS</b>	<b>23</b>
4.1. Objetivo general	23
4.2. Objetivos específicos	23
<b>5. METODOLOGÍA</b>	<b>23</b>
5.1. Tipo de Estudio	23
5.2. Universo y Muestra	24
5.2.1. Muestra	24
5.2.2. Tamaño de la muestra	24
5.2.3. Criterios de selección	24
5.2.3.1. Casos	25
5.2.3.1.1. Criterios de inclusión	25
5.2.3.1.2. Criterios de exclusión	25
5.2.3.2. Controles	25
5.2.3.2.1. Criterios de inclusión	25
5.2.3.2.2. Criterios de exclusión	25
5.3. Reclutamiento de pacientes y recolección de información	25
5.4. Métodos de laboratorio	27
5.4.1. Toma de muestras	27

5.4.2.	Extracción de ADN .....	27
5.4.3.	Identificación de las variantes de secuencia de la región codificante de <i>COMT</i> .....	28
5.4.3.1.	Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	28
5.4.3.2.	Análisis de secuenciación de la región codificante de <i>COMT</i> .....	29
5.4.4.	Métodos de Control en la genotipificación .....	30
5.5.	Análisis de la Información .....	31
5.5.1.	Métodos de control de sesgo y error .....	32
5.5.2.	Análisis Estadístico .....	33
5.6.	Resumen metodológico.....	35
<b>6.</b>	<b><u>ASPECTOS ÉTICOS .....</u></b>	<b>36</b>
<b>7.</b>	<b><u>RESULTADOS.....</u></b>	<b>36</b>
7.1.	Caracterización Demográfica .....	36
7.2.	Caracterización Genética .....	38
7.2.1.	Productos amplificados obtenidos en la PCR de la región codificante de <i>COMT</i> .....	38
7.2.2.	Descripción de los SNP identificados en la población de estudio .....	41
7.2.2.1.	rs4633 .....	41
7.2.2.2.	rs740602 .....	42
7.2.2.3.	rs6267 .....	43
7.2.2.4.	rs375558228 .....	43
7.2.2.5.	rs138628382 .....	44
7.2.2.6.	rs4818 .....	45
7.2.2.7.	rs4680 .....	46
7.2.2.8.	rs199710929 .....	47
7.2.2.9.	rs8192488 .....	47
7.2.2.10.	rs769224 .....	48
7.2.2.11.	rs165631 .....	49
7.2.3.	Análisis de asociación de los polimorfismos identificados en <i>COMT</i> y el fenotipo de depresión mayor.....	50
7.2.4.	Análisis de asociación de los polimorfismos de <i>COMT</i> y los endofenotipos de TDM. ...	50
7.2.5.	Determinación de los haplotipos del gen <i>COMT</i> y análisis de asociación con el fenotipo de TDM.....	51
7.2.6.	Comparación de las frecuencias alélicas de los SNP identificados en el presente estudio con población a nivel mundial.....	53
7.2.7.	Alineamiento de los SNP no sinónimos del gen <i>COMT</i> identificados en la población de estudio y determinación In Silico de su patogenicidad.....	55
7.2.8.	Asociación de variables no genéticas al fenotipo TDM .....	56
<b>8.</b>	<b><u>DISCUSIÓN .....</u></b>	<b>58</b>
<b>9.</b>	<b><u>CONCLUSIONES .....</u></b>	<b>61</b>
<b>10.</b>	<b><u>REFERENCIAS.....</u></b>	<b>62</b>
<b>11.</b>	<b><u>AGRADECIMIENTOS .....</u></b>	<b>69</b>
<b>12.</b>	<b><u>ANEXOS.....</u></b>	<b>70</b>

ANEXO 1. Formato de Consentimiento Informado Casos .....	70
ANEXO 2. Formato de Consentimiento Informado Controles.....	74
ANEXO 3. Formato de Recolección de Datos .....	78
ANEXO 4. MINI Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional .....	81

## INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

**Figura 1.** Síntesis y degradación de las catecolaminas.

**Figura 2.** Distribución de edad en la población de estudio

**Figura 3.** Productos amplificados del exón 3

**Figura 4.** Productos amplificados del exón 4

**Figura 5.** Productos amplificados del exón 5

**Figura 6.** Productos amplificados del exón 6

**Figura 7.** Bloque haplotípico de 3 SNPs en Desequilibrio de Ligamiento.

**Figura 8.** Permutaciones x 1000 de los haplotipos encontrados en el gen  
*COMT*

**Tabla 1.** Cebadores (*primers*) para la amplificación de los exones 3, 4, 5 y 6

**Tabla 2.** Cebadores (*primers*) para la secuenciación de los exones 3, 4, 5 y 6

**Tabla 3.** Variables utilizadas en el estudio

**Tabla 4.** Posibles sesgos y métodos de control de los mismos

**Tabla 5.** Características demográficas de la población de estudio

**Tabla 6.** Características de la edad en la población de estudio

**Tabla 7.** Características de los 11 SNPs encontrados en el presente estudio.

**Tabla 8.** Frecuencias alélicas del SNP rs4633

**Tabla 9.** Frecuencias genotípicas del SNP rs4633

**Tabla 10.** Frecuencias alélicas del SNP rs740602

**Tabla 11.** Frecuencias genotípicas del SNP rs740602

**Tabla 12.** Frecuencias alélicas del SNP rs6267

**Tabla 13.** Frecuencias genotípicas del SNP rs6267

**Tabla 14.** Frecuencias alélicas del SNP rs375558228

**Tabla 15.** Frecuencias genotípicas del SNP rs375558228

**Tabla 16.** Frecuencias alélicas del SNP rs138628382

**Tabla 17.** Frecuencias genotípicas del SNP rs138628382

**Tabla 18.** Frecuencias alélicas del SNP rs4818

**Tabla 19.** Frecuencias genotípicas del SNP rs4818

**Tabla 20.** Frecuencias alélicas del SNP rs4680

**Tabla 21.** Frecuencias genotípicas del SNP rs4680

**Tabla 22.** Frecuencias alélicas del SNP rs199710929

- Tabla 23.** Frecuencias genotípicas del SNP rs199710929
- Tabla 24.** Frecuencias alélicas del SNP rs8192488
- Tabla 25.** Frecuencias genotípicas del SNP rs8192488
- Tabla 26.** Frecuencias alélicas del SNP rs769224
- Tabla 27.** Frecuencias genotípicas del SNP rs769224
- Tabla 28.** Frecuencias alélicas del SNP rs165631
- Tabla 29.** Frecuencias genotípicas del SNP rs165631
- Tabla 30.** Evaluación de la asociación entre los 11 SNPs del gen *COMT* con EDM ( $p < 0.05$ ).
- Tabla 31.** Evaluación de la asociación entre los 11 SNPs del gen *COMT* con los endofenotipos de EDM, recidivante (EDMR) y con melancolía.
- Tabla 32.** Haplotipos del gen *COMT*
- Tabla 33.** Bloque haplotípico encontrados en Desequilibrio de Ligamiento ( $p < 0.05$ )
- Tabla 34.** Comparación de frecuencias alélicas de SNPs del gen *COMT* a nivel mundial
- Tabla 35.** Frecuencias alélicas de rs6267 de ENSAMBL y las encontradas en nuestro estudio en controles.
- Tabla 36.** Aminoácidos ubicados en la posición de los cuatro SNP no sinónimos, observados en cinco especies diferentes.
- Tabla 37.** Predicción de daño en la proteína según Polyphen-2 y SIFT.

# EL PAPEL DE POLIMORFISMOS DEL GEN *COMT* EN LA SUSCEPTIBILIDAD A LA DEPRESIÓN MAYOR

## 1. RESUMEN

Se ha descrito que las alteraciones de las vías noradrenérgica, serotoninérgica y dopaminérgica son responsables de la fisiopatología de la depresión y, la modulación variable de las mismas es, hasta cierto punto, responsable de la variabilidad individual en la respuesta clínica al tratamiento antidepresivo observada en diferentes pacientes.

Considerando que la enzima Catecol-O-Metiltransferasa (*COMT*) es importante en el catabolismo de neurotransmisores como noradrenalina y dopamina, se propone examinar la asociación entre los haplotipos del gen *COMT* y la susceptibilidad a la depresión mayor. Este estudio está focalizado en pacientes con diagnóstico de depresión mayor.

En Colombia la frecuencia de uso de los servicios de salud para la atención de trastornos del estado de ánimo es de 14,2%, de estos el más frecuente es el trastorno depresivo mayor (1). Este hecho, sumado a la variación en la respuesta a medicamentos antidepresivos hace necesario la implementación de estudios que integren áreas de Psiquiatría y Genética hacia objetivos comunes como la identificación de los aspectos genéticos y clínico-psiquiátricos que ayuden a optimizar el diagnóstico y la terapéutica en este grupo de pacientes.

La revisión de la literatura especializada permite concluir que éste es el primer estudio en Colombia que relaciona los polimorfismos de *COMT* con la susceptibilidad a la depresión mayor y permitirá determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos que se encuentren en la población.

Se logro realizar la caracterización del gen *COMT* en una muestra de la población colombiana, se obtuvieron las frecuencias alélicas y genotípicas de este, además las frecuencias haplotípicas.

Aunque no se encontró una asociación entre este gen y la Depresión Mayor, se permitió hacer una aproximación al estudio de ciertos endofenotipos de esta entidad y otros trastornos psiquiátricos, sin embargo este estudio al tener un tamaño de muestra pequeño requiere futuros estudios que permitan corroborar o cambiar los hallazgos dados en nuestros resultados.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

La depresión es considerada una enfermedad multifactorial en la que tanto factores genéticos como ambientales juegan un rol importante. Los factores genéticos influyen de manera trascendental, en la susceptibilidad a sufrir esta enfermedad así como también en la eficacia de la terapéutica y la generación de reacciones adversas. Se han identificado polimorfismos genéticos que confieren diferencias interindividuales en la respuesta a los fármacos, conocimiento necesario para modificar y ajustar las dosis de los medicamentos con el fin de lograr el objetivo terapéutico y reducir el número e impacto de las reacciones adversas o fallos terapéuticos asociados con estos polimorfismos.

En Colombia, la prevalencia de vida de trastornos del afecto que incluyen la depresión mayor, es de 15% en ambos sexos siendo del 17.5% en mujeres, según el Estudio Nacional de Salud Mental de 2003. La alta prevalencia de esta enfermedad hace necesario determinar un método diagnóstico rápido y eficaz. Hasta el momento, el diagnóstico de esta entidad se realiza de una manera parcialmente subjetiva basada en los criterios de DSM IV según el concepto del psiquiatra tratante, sin embargo no son de uso común otras herramientas que permitan una determinación cuantitativa. Adicionalmente, no existen en la actualidad biomarcadores que faciliten la detección de sujetos con una mayor susceptibilidad a padecer esta enfermedad o que puedan utilizarse como herramienta diagnóstica en conjunto con los métodos actuales.

El estudio de polimorfismos genéticos es de interés médico, debido a que estos son responsables de la susceptibilidad a algunas enfermedades multifactoriales como la depresión, y hoy en día la caracterización de estas variantes genéticas se usa como parte del diagnóstico y en el tratamiento de estas, de manera individual para cada paciente.

Por otro lado, debido a que esta enfermedad es común en nuestra población, gran cantidad de la población requiere el uso de medicamentos antidepresivos pues son éstos parte fundamental del tratamiento. Estos fármacos muestran variabilidad en la respuesta individual, en términos de efectividad o tiempo transcurrido para lograr respuesta clínica (2) (reducción de 50% del puntaje o más en la Escala de Depresión de Hamilton -HAM-D17) o de remisión (2) (puntaje HAM-D 17<8). Esta variación, así como diferencias en la respuesta al tratamiento (mayor o menor eficacia), y las potenciales reacciones adversas que son causa de morbi-mortalidad, se explican, en parte, por la existencia de polimorfismos genéticos de genes involucrados en el metabolismo de catecolaminas (3,4). Adicionalmente los polimorfismos genéticos responsables de las reacciones adversas o la toxicidad por medicamentos presentan frecuencias variables según la población (5) y pueden también estar determinados genéticamente.

Se han realizado estudios que buscan encontrar factores tanto ambientales como genéticos de susceptibilidad a Depresión mayor, y sugieren que un ambiente desfavorable como una familia disfuncional, de bajo nivel socioeconómico, múltiples situaciones de estrés en la infancia sumado a algunos polimorfismos en los genes que regulan las vías de dopamina y serotonina generan predisposición a sufrir depresión mayor (6). Por ejemplo, el gen *COMT* que codifica para la enzima Catecol-O-Metiltransferasa involucrada en la degradación de las catecolaminas, se ha involucrado con la predisposición a varias enfermedades psiquiátricas.

En la población de Colombia, se desconoce la frecuencia de los polimorfismos, genotipos y haplotipos de *COMT* que puedan llegar a ser marcadores de susceptibilidad de esta patología o de otras entidades psiquiátricas.

### **3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE**

#### **3.1. Trastornos del estado de ánimo**

##### **3.1.1. Definición y clasificación de los trastornos de estado de ánimo**

Los trastornos del estado de ánimo tienen como característica principal la alteración del estado de ánimo y del humor, el diagnóstico se basa en la presentación y la periodicidad de los episodios afectivos.

Los trastornos del estado de ánimo, según la clasificación de DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*), de la Asociación Estadounidense de Psiquiatría, se dividen en: trastornos depresivos, trastornos bipolares, trastornos del estado de ánimo asociados a enfermedad médica o causados por sustancias activas (7). El interés del presente estudio se centra en las causas de la depresión y sus variantes.

##### **3.1.2. Trastornos depresivos**

Los trastornos depresivos se dividen, a su vez, en:

###### **3.1.2.1. Trastorno depresivo mayor (TDM)**

Cuando ocurren uno o más episodios depresivos mayores, entendiéndose estos según los criterios que se delinearán más adelante (7).

###### **3.1.2.2. Trastorno distímico (TDT)**

Consiste en un período de dos años en los que la mayor parte de este tiempo se presenta un estado de ánimo depresivo que se acompaña de otros síntomas, sin que se cumplan los criterios de un episodio depresivo mayor (7).

###### **3.1.2.3. Trastorno depresivo no especificado (TDNE)**

Se incluye en esta categoría a otros trastornos con características depresivas que no clasifican dentro de los anteriores (7).

### **3.1.3. Trastornos bipolares**

Los trastornos bipolares incluyen la presencia de un episodio maniaco, mixto o hipomaniaco que se acompaña de síntomas de depresión mayor. Se subdividen en el trastorno bipolar tipo I (TBP-I), trastorno bipolar II (TBP-II), trastorno ciclotímico (TCT) y trastorno bipolar no especificado (TBNE) (7).

#### **3.1.3.1. Trastorno bipolar I (TBP-I)**

Hace referencia a la presencia de más de un episodio maniaco, el cual consiste en un estado de ánimo elevado, eufórico, expansivo y anormalmente bueno e irritable con ideas delirantes y alucinaciones, por un tiempo mayor a una semana; también puede ser más de un episodio mixto con la alternancia rápida de estados de ánimo de tristeza (depresión) y euforia (manía), acompañados de episodios depresivos mayores (7).

#### **3.1.3.2. Trastorno bipolar II (TBP-II)**

Consiste en presentar uno o más episodios depresivos mayores acompañados por, al menos un episodio hipomaniaco, que se define como un periodo que dura cuatro días en un estado de ánimo elevado o irritable y otros tres con aumento de la autoestima y la grandiosidad hasta la agitación psicomotora, sin que existan ideas delirantes ni alucinaciones (7).

#### **3.1.3.3. Trastorno ciclotímico (TCT)**

Se refiere a una persona con dos años de múltiples periodos de síntomas hipomaniacos y periodos de síntomas depresivos (7).

#### **3.1.3.4. Trastorno bipolar no especificado (TBNE)**

Abarca todos los otros cuadros con síntomas bipolares que no cumplen los criterios de los anteriores tres sub-grupos (7).

### **3.1.4. Otros trastornos del estado de ánimo**

El trastorno del estado del ánimo debido a enfermedades médicas hace referencia a la etiología de base desencadenante (por ejemplo el secundario al cáncer de seno) (8); de igual manera se clasifica a los trastornos del estado de ánimo que son secundarios a alguna sustancia (p. ej. efecto adverso al suministro de beta-bloqueadores como propanolol) (7).

### **3.1.5. Frecuencia de los trastornos del estado de ánimo**

En el Estudio Nacional de Salud Mental, realizado en 2003, se observó una prevalencia de 12 meses en Colombia de los trastornos de estado de ánimo de un 6.9% (8.7% en mujeres y 4.5% en hombres). El más frecuente de estos fue el TDM con un 5.6% de la población total (prevalencia discriminada por género en mujeres 7.3% y hombres 3.5%), con una edad de inicio hacia los 24 años (1). La prevalencia del TDM a nivel mundial es de 6.6% en un periodo de 12 meses (9) y en Alemania fue de un 10.7% en un periodo de 12 meses (10).

### **3.2. Trastorno depresivo mayor (TDM)**

Consiste en uno o más episodios depresivos mayores, entendiéndose por episodio depresivo mayor (EDM) a un periodo superior a dos semanas con un estado de ánimo deprimido o pérdida del interés o de la capacidad para experimentar placer en casi todas las actividades; además, los enfermos de EDM tienen, según DSM-IV, al menos cuatro de los siguientes síntomas: pérdida o aumento del peso corporal, insomnio o hipersomnia, agitación o enlentecimiento psicomotor, fatiga o pérdida de energía, sentimientos de inutilidad o de culpa excesivos o inapropiados, disminución de la capacidad para pensar o concentrarse, pensamientos recurrentes de muerte, ideación suicida sin un plan específico o una tentativa de suicidio o con un plan específico para suicidarse. Para determinar un estado depresivo mayor aislado los síntomas deben provocar deterioro social o laboral y se deben descartar el trastorno afectivo bipolar o la presencia de una sustancia exógena o una enfermedad médica de base o la presencia de un duelo (pérdida de un ser querido) (7).

El EDM suele desarrollarse en pocos días y puede estar precedido de síntomas de ansiedad o depresión leve con una duración, sin tratamiento, de seis meses o más. Con el tratamiento, casi siempre se alcanza la remisión completa de los síntomas; no obstante, hay casos de remisión parcial de los síntomas o estos persisten por más de dos años, hallazgo que se le considera como EDM crónico (7).

El TDM suele tener un curso único; en los casos en que es recidivante incluye dos o más EDM y el TDM se convierte en crónico, con deterioro progresivo y se presenta luego de acontecimientos psicosociales estresantes graves. La edad promedio de inicio del TDM es hacia los 25 años, aunque los datos epidemiológicos muestran que la edad de inicio se viene acortando (7).

En los menores de edad el TDM se asocia frecuentemente a estados crónicos, recurrentes y desenlaces negativos. El inicio en la mitad de los adultos jóvenes con TDM fue en la adolescencia (11). En el TDM recidivante cada episodio depresivo incrementa la probabilidad de sufrir uno nuevo (7) y la consecuencia más grave de un EDM es el suicidio, tanto en la tentativa como el suicidio consumado, riesgo que aumenta en personas con una historia familiar positiva de este (7). La prevalencia de intento de suicidio en Colombia es de un 1.3% en la población total (1).

### **3.2.1. Etiología de trastorno depresivo mayor**

El TDM desde el punto de vista genético se le considera de herencia compleja o multifactorial (12,13) y por ello se han realizado estudios para identificar factores ambientales y genéticos de susceptibilidad. Se ha propuesto que los ambientes desfavorables, como una familia disfuncional, el bajo nivel socioeconómico y las múltiples situaciones de estrés en la infancia (14), entre otros, son factores que sumados a algunos polimorfismos en los genes que regulan las vías de dopamina y serotonina y otras, generan la predisposición a sufrir una depresión mayor (6).

Situaciones de adversidad en la niñez como: maltrato físico, abuso de sustancias psicoactivas por parte del cuidador, abuso sexual y abandono en un

hogar de paso, están definitivamente ligadas a la presentación de depresión mayor en la edad adulta y constituyen un factor de riesgo muy importante (15). También se ha encontrado una fuerte relación con la exposición al humo de cigarrillo en edades tempranas o durante el embarazo que se asocian al aumento del riesgo a sufrir depresión mayor en la edad adulta (16).

El alto consumo de ácidos grasos insaturados *trans* contenidos en las llamadas “comidas rápidas” y pastelería, se relaciona con un riesgo aumentado a depresión mayor (17,18).

Dentro de algunos factores protectores para no presentar depresión mayor se ha postulado la actividad física durante la adolescencia para disminuir los factores estresantes de este periodo transicional (19). También se ha postulado la ingesta de ácidos grasos Omega-3 como un factor de protección gracias su acción de mantenimiento de las estructuras cerebrales y también a la interacción en el metabolismo de fosfolípidos, en la modulación de la transducción de señales (20).

En cuanto a las causas genéticas de la depresión se han encontrado asociaciones con *loci* que mapean en los cromosomas 4 y 9, con respecto a la depresión (21). Los estudios en gemelos monocigotos y dicigotos han demostrado una heredabilidad del 37%, por tanto, se considera que los factores ambientales son más relevantes que los genéticos como causa de depresión (22–24). Se ha postulado como *loci* causales de TDM genes como *PCNT* (pericetrina) que mostró asociación significativa con 2 SNPs (*single nucleotide polymorphism*) y el TDM (25).

Un meta-análisis para el estudio de depresión, evaluó el papel de 200 genes candidatos; de estos, 26 (incluido *COMT*), mostraron evidencia de relación con el fenotipo en otros estudios. La asociación importante entre el fenotipo depresión y genes candidato sugirió siete genes como causales del fenotipo *5HTTP/SLC6A4*, *APOE*, *DRD4*, *GNB3*, *HTR1A*, *MTHFR* y *SLC6A3*, dentro de los cuales no estaba *COMT* (24). Además, desde 1997 un estudio clínico identificó una fuerte asociación entre el síndrome Velocardiofacial y enfermedades psiquiátricas del estado de ánimo. El síndrome Velocardiofacial

incluye defectos cardiacos, labio/paladar hendido, una facies peculiar y déficit cognitivo causados por una micro-delección en 22q11, región en la que está localizado el gen *COMT* (26,27).

### **3.2.2. Fisiopatología de la Depresión**

Entre las teorías sobre la fisiopatología de la depresión mayor se encuentran: las hipótesis del estrés y del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (22), la hipótesis de deficiencia de mono-aminas (22), de la alteración de la neurotransmisión de la vía glutamatergica, que menciona como los niveles de glutamato y glutamina se encuentran reducidos en la corteza prefrontal (28–30), la reducción de la neurotransmisión de la neurotransmisión de las neuronas GABAérgicas (del ácido gamma amino butírico (GABA)) (28,31,32), las anormalidades en el ritmo circadiano (33–35), la deficiencia en la síntesis de neuro-esteroides (36), la alteración en la función de los opioides endógenos como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (37,38), el desbalance entre mono-amina y acetilcolina (39), las alteraciones del sistema inmune y depresión mediada por citoquinas (14,40), las anormalidades en la tiroxina (41,42) y el sistema fronto-límbico con cambios estructurales a nivel de la corteza pre-frontal y la amígdala en individuos con depresión y cambios en los niveles de cortisol a los cuales es sensible el hipocampo (22,23,43–45).

La hipótesis del estrés, eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y los factores de crecimiento consiste en que el estrés es percibido por la corteza cerebral y transmitido al hipotálamo donde es liberada la Hormona Liberadora de Corticotropina (CRH) sobre los receptores de la hipófisis, generando secreción de corticotropina en el plasma lo que estimula a los receptores en la corteza adrenal, liberando finalmente cortisol a la sangre que llega al hipotálamo lo que disminuye los niveles de CRH como respuesta para mantener la homeostasis. Los pacientes con depresión presentan niveles elevados de cortisol en plasma y niveles elevados de CRH en líquido cefalorraquídeo, lo que indica una desregulación de este eje. Para evaluar este sistema, se administra dexametasona para suprimir los niveles altos de cortisol (22).

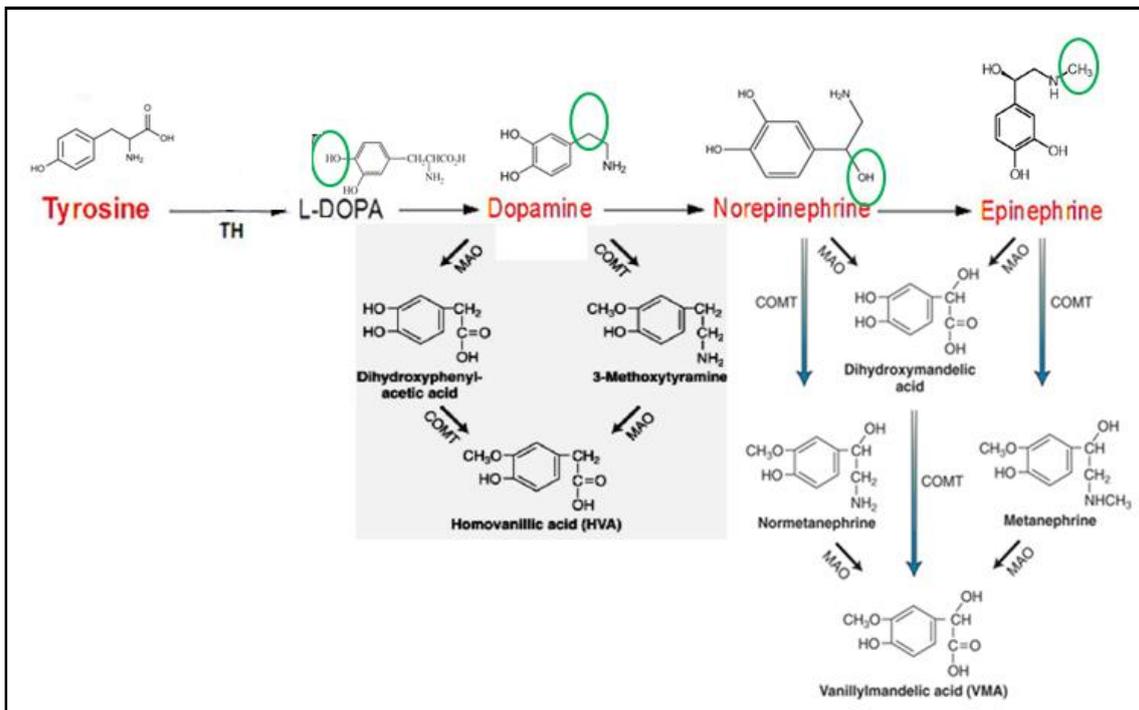
La hipótesis de la deficiencia de monoaminas se generó a partir de estudios en cerebros de pacientes pos-mortem. Se encontraron disminuidos en el líquido cefalorraquídeo y otros fluidos corporales, los niveles de metabolitos como noradrenalina y serotonina. Además, con la administración de medicamentos inhibidores de la enzima MAO, se comprobó aumento de estos neurotransmisores (22). Otro ejemplo de la hipótesis de deficiencia de monoaminas es un estudio en que pacientes tratados con reserpina mostraban un estado de ánimo depresivo, que se explica por la depleción que este medicamento producía en las reservas centrales de monoaminas (14).

En estudios experimentales se encontró que los niveles del principal metabolito de la serotonina, el ácido 5 hidroxindolacético, estaban disminuidos en el líquido cefalorraquídeo de pacientes depresivos (46). Es por esto que otro polimorfismo ampliamente relacionado con depresión mayor es el *5-HTTLPR*, en la región promotora del gen transportador de serotonina, que genera una disminución de los niveles de este neurotransmisor en el espacio pre-sináptico (22).

Otros neurotransmisores relacionados con la depresión, son las catecolaminas, sustancias formadas por un grupo catecol y otra cadena lateral con un grupo amino. Las más importantes son dopamina, adrenalina y noradrenalina (47).

Su biosíntesis es a partir de la tirosina que es un aminoácido que puede ser endógeno (originado de fenilalanina) o exógeno (adquirido en la dieta) se realiza en 4 reacciones: inicialmente por acción de la Tirosina-Hidroxilasa (TH), se convierte la tirosina en dihidroxifenilalanina (DOPA), por hidroxilación, este es un paso limitante ya que se encuentra muy regulada esta TH. La DOPA se transforma en dopamina, por una descarboxilación realizada por la enzima Descarboxilasa de L-Aminoácidos Aromáticos, y requiere piridoxal fosfato como cofactor. La enzima Dopamina- $\beta$ -Hidroxilasa ( $D\beta H$ ) produce la conversión de dopamina a noradrenalina, que es metilada en el nitrógeno de su grupo amino dando como producto adrenalina, por metilación de la enzima Feniletanolamina-N-Metiltransferasa (PNMT) que utiliza como cofactor un dador de metilos, la S-adenosil-L-metionina, así como también  $O_2$  y  $Mg^{+2}$  (47). (Figura 1)

La degradación de las catecolaminas, se hace por la intervención de las enzimas monoamino-oxidasa (MAO) antes mencionada (48) y la catecol-O-metil transferasa (COMT) (49), de la siguiente forma: La enzima COMT, por su acción metil transferasa (transfiere grupos metilo de la S-adenosil-l-metionina al grupo hidroxilo de las catecolaminas), convierte la dopamina en 3-metoxitiramina que por acción de la MAO será convertida en ácido homovanílico. Así mismo la COMT convierte la norepinefrina en normetaepinefrina y la epinefrina en metaepinefrina; estas dos últimas, por acción de la MAO, serán finalmente degradadas en ácido vanilil-mandélico (Figura 1).



**Figura 1.** Síntesis y degradación de las catecolaminas. (Tomado y modificado del Libro Hormonas Catecolámnicas, 2010)

Siendo la Catecol-O-Metiltransferasa (COMT) la enzima responsable en gran parte de la degradación e inactivación de las catecolaminas (dopamina, adrenalina y noradrenalina) (50) y de moléculas que tienen un anillo catecol dentro de su estructura química como la L-DOPA (49) y teniendo en cuenta que muchos fármacos antidepresivos ya mencionados dependen de manera

directa o indirecta de la potenciación de vías noradrenérgicas para ejercer su acción antidepresiva, existe evidencia que sugiere cómo una mayor o menor actividad de esta enzima podría condicionar una interacción de mayor o menor duración de la noradrenalina y la dopamina con sus receptores pos-sinápticos, lo que a su vez, podría tener alguna influencia sobre la eficacia de los tratamientos antidepresivos. Es importante aclarar que el principal mecanismo responsable de la terminación de la acción de la noradrenalina en las neuronas corresponde a la participación de los sistemas de recaptación 1 y 2 presentes en las terminaciones nerviosas pre-sinápticas y pos-sinápticas, respectivamente, de las neuronas noradrenérgicas (51). La relación entre bajos niveles de actividad de la COMT y la generación de efectos adversos de fármacos inhibidores de la MAO (IMAO) que potencian la liberación de noradrenalina en diferentes sitios del organismo, diferentes al SNC, queda demostrada por el aumento de los niveles del principal metabolito de la degradación de la noradrenalina en el cerebro es el 3-metoxi-4 hidroxifenilglicol (MHEPG) (51)

### **3.2.3. Tratamiento de los Trastornos Depresivo Mayor**

El tratamiento para los TDM es la administración de diferentes fármacos llamados antidepresivos. Los antidepresivos disponibles en la actualidad son variados y se clasifican de acuerdo con el objetivo molecular en: inhibidores selectivos de la re-captación de serotonina, los cuales inhiben el transporte de este neurotransmisor y son los de prescripción más frecuente. Dentro de estos encontramos: fluoxetina, sertralina, citalopram, paroxetina, fluvoxamina y escitalopram. Un segundo grupo de antidepresivos, son los inhibidores de la re-captación de serotonina-noradrenalina, que se dividen en inhibidores selectivos de la re-captación de serotonina-noradrenalina y los antidepresivos tricíclicos; los primeros se unen a los transportadores de serotonina y noradrenalina (venlafaxina, desvenlafaxina, duloxetina y milnacipram), mientras que los segundos (debido a la poca tolerancia, limitaciones en el uso y mortalidad por sobredosis), se usan en la depresión refractaria a otros antidepresivos de uso más frecuente. Los antidepresivos tricíclicos son: imipramina, amitriptilina, doxepina, desipramina, clomipramina, trimipramina, nortriptilina y protriptilina

(52). Un tercer grupo de fármacos antidepresivos son los antagonistas del receptor de 5-HT, los que se usan en trastornos de ansiedad y poseen efectos sedantes sin dependencia; los más conocidos son trazadona y nefazodona. Además, existen los antidepresivos tetracíclicos y unicíclicos, que no hacen parte definida en un grupo específico de antidepresivos y son para los tetracíclicos: mirtazapina, amoxapina y maprotilina, dado que tienen estructuras similares a la del antibiótico tetraciclina; por otra parte, el bupropión posee estructura unicíclica y simula químicamente a la anfetamina. Estos no suelen prescribirse actualmente y el uso se reduce a cuando el TDM no responde a otros medicamentos (52).

Finalmente cabe mencionar a los inhibidores de la monoamino oxidasa (MAO), que fueron los primeros antidepresivos y hoy rara vez son usados debido a su toxicidad y la potencial interacción letal con otros fármacos y alimentos. Se incluyen los derivados de la hidracina como la fenilcina y la isocarboxacida y otros compuestos no derivados de hidralacina, tales como la tranilcipromina, la selegilina y la moclobemida (52).

### **3.3. Depresión y gen *COMT***

El gen *COMT* se encuentra ubicado en el brazo largo del cromosoma 22 y está compuesto por 6 exones, de los cuales, los dos primeros no son codificantes. En el exón 3 se encuentran dos codones de inicio en diferentes sitios, para dos promotores P1 y P2, que codifican dos isoformas: la proteína MB-COMT de unión a membrana, con 271 aminoácidos y la proteína S-COMT soluble citoplasmática de 221 aminoácidos. En el cerebro humano predomina la expresión del transcrito largo (MB-COMT) en un 70% y en los tejidos periféricos predomina la S-COMT. Estas variaciones de los niveles de expresión sugieren regulación por factores de transcripción tejido-específicos (49).

Según esto, la *COMT* puede tener funciones únicas o indirectas en el riñón y en el tracto intestinal, modulando el tono dopaminérgico. También en el cerebro donde la actividad de *COMT* puede regular las cantidades de dopamina y

noradrenalina activas, estando por lo tanto, asociada al estado de ánimo y otros procesos mentales (49).

Adicionalmente, algunos polimorfismos de *COMT* se han visto asociados a trastornos neuro-psiquiátricos como alteraciones de la personalidad (53), el abuso de sustancias psicoactivas (54), e incluso, con otras enfermedades como el cáncer de seno (55). El papel de los polimorfismos de *COMT* en la esquizofrenia es controvertido en la actualidad; un meta-análisis publicado en el año 2005 le restó importancia a la relación entre estos polimorfismos y la presencia de la enfermedad esquizofrénica (56).

Uno de los polimorfismos más ampliamente estudiado es el Val158Met (rs4680), que es el resultado de un cambio en la secuencia del DNA codificante del gen *COMT* de una Guanina por una Adenina en la posición 472 que altera la cadena proteica con el reemplazo del aminoácido Valina por Metionina en la posición 158. Los homocigotos A/A muestran reducción de la actividad enzimática (3-4 veces menor), mientras que los heterocigotos G/A presentan una actividad intermedia (57).

En cuanto al gen *COMT* y la susceptibilidad a TDM los estudios y meta-análisis que lo proponen como gen candidato de causalidad de esta enfermedad; sin embargo, hasta el momento los resultados han sido controversiales (24).

En 1998, en Japón, evaluaron el polimorfismo Val158Met (rs4680) del gen *COMT* en 75 pacientes que presentaban TDM y 135 controles, encontrando una relación significativa entre la presencia de una enzima *COMT* de baja actividad y el fenotipo depresión (58). En contraste, en Israel, no se halló asociación entre el polimorfismo Val158Met (rs4680) y TDM, dado que no se encontró una diferencia significativamente estadística entre los dos grupos, con lo cual los autores descartaron el papel de este polimorfismo en la susceptibilidad a la depresión mayor (59).

En otro estudio que abordó TDM y varios genes, incluyendo el gen *COMT*, se encontró asociación significativa con el polimorfismo no sinónimo rs6267, que consiste en el cambio de una Guanina por una Timina en la posición 214 del

DNA codificante, que lleva a un cambio en la proteína de Alanina en la posición 72 por Serina (Ala72Ser); la combinación del polimorfismo con otros para conformar un haplotipo de riesgo falló en apoyar este tipo de evidencia, por lo que la hipótesis de asociación fue rechazada y descartada (12).

Con respecto a los polimorfismos del gen *COMT* y la respuesta al tratamiento antidepresivo, se han publicado estudios que analizan la relación entre uno o varios polimorfismos y la respuesta a un tratamiento con un único medicamento antidepresivo (3,4,60,61). Un estudio italiano en 55 pacientes encontró como el polimorfismo Val158Met (rs4680) se relaciona con el tiempo que tarda la paroxetina en ejercer una acción antidepresiva, encontrando que los efectos más rápidos se daban en los pacientes homocigotos A/A y malos resultados en los pacientes homocigotos G/G y resultados intermedios en los pacientes heterocigotos G/A (4). Un estudio más, realizado en pacientes europeos (207 italianos y 139 españoles) que tomaban diferentes fármacos inhibidores de la recaptación de la serotonina, encontró resultados similares, aunque de menor magnitud y particularmente en pacientes tratados con citalopram (3).

También hay estudios que abordan el problema junto con la administración de terapias combinadas. Un estudio clínico realizado en Alemania que incluyó a 102 pacientes con diagnóstico de depresión mayor (puntaje mayor a 18 en la escala de Hamilton y de Montgomery) a quienes se les administró mirtazapina y paroxetina y posteriormente, se realizó la correlación entre el genotipo y la respuesta al tratamiento antidepresivo (60). Los resultados de este ensayo clínico mostraron que los portadores del genotipo A/A tenían una menor respuesta a la mirtazapina en comparación con los genotipos G/G o G/A, hallazgo que plantea retos en el modelo investigativo de los polimorfismos de *COMT* relacionados con la acción farmacológica de los antidepresivos. Además, fueron los pacientes con estos dos últimos genotipos quienes mostraron las mayores reducciones en el puntaje de la escala de Hamilton. Sin embargo, no se encontró una asociación significativa entre los genotipos y la respuesta al tratamiento con paroxetina.

No obstante, otros estudios no muestran la fuerte relación entre el polimorfismo Val158Met (rs4680) con la susceptibilidad a TDM y se ha recomendado realizar

estudios amplios que involucren otros SNPs para continuar en la búsqueda de una asociación firme. Por ejemplo, un estudio multicéntrico de asociación que incluyó 396 pacientes caucásicos con TDM y 295 controles en el cual estudiaron 7 SNPs diferentes, sinónimos y no sinónimos (incluyendo rs4680), mostró en sus resultados que la presencia de asociación entre unos haplotipos específicos con el fenotipo, es más relevante que la asociación entre un SNP único y la susceptibilidad al TDM y con respuesta al tratamiento (62).

En apoyo a lo anterior, un estudio realizado en China con 308 pacientes con diagnóstico de Depresión Mayor, se evaluaron 13 SNPs en seis genes diferentes y relacionados con esta entidad (incluyendo rs4680); no se encontró asociación significativa entre cualquiera de los polimorfismos y la respuesta al tratamiento antidepressivo (63), como también lo indicó el estudio STAR\*D (*Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression*) que analizó 768 SNPs relacionados con TDM en diferentes genes (64). Resultados similares se a los que se hallaron en un estudio de 334 pacientes en población china, donde evaluaron la respuesta al tratamiento antidepressivo con fluoxetina a las cuatro semanas y no encontraron efecto del SNP rs4680 en este (65).

Es claro que existe la controversia sobre el papel que tienen algunos polimorfismos del gen *COMT* y el fenotipo TDM, que son motivo de este trabajo de tesis; por lo tanto, es necesario explorar en otras poblaciones el efecto en conjunto de los diferentes polimorfismos del gen *COMT* en la susceptibilidad a presentar TDM en la población colombiana, información que ofrecerá a los psiquiatras herramientas de medicina personalizada, con futuros beneficios terapéuticos y en la calidad de la vida de las personas quienes la padecen.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general**

Determinar si existe una asociación entre los diferentes polimorfismos del gen *COMT* (que codifica para la enzima Catecol-O-Metiltransferasa) y la susceptibilidad a la depresión mayor, en una muestra de pacientes diagnosticados con esta entidad en la ciudad de Bogotá, Colombia.

### **4.2. Objetivos específicos**

- Determinar los polimorfismos del gen *COMT* en una muestra de controles y pacientes colombianos con depresión Mayor.
- Caracterizar los haplotipos del gen *COMT* en una muestra de controles y pacientes colombianos.
- Establecer las frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas de los polimorfismos del gen *COMT* en la población de estudio y compararlos con los reportados en la literatura en poblaciones similares.
- Determinar si el SNP del gen *COMT* Val158Met (rs4680) se encuentra asociado con la susceptibilidad a sufrir depresión mayor, en una muestra de población colombiana.
- Identificar polimorfismos del gen *COMT* que puedan estar asociados con susceptibilidad a desarrollar Depresión Mayor.

## **5. METODOLOGIA**

### **5.1. Tipo de Estudio**

Se trata de un estudio de asociación caso-control con un ratio aproximado de 1:1,5. Es decir, se incluyeron 1,5 controles por cada caso analizado de depresión Mayor. Los controles fueron pareados con los casos teniendo en cuenta las siguientes variables: edad, género y estrato socio-económico.

## **5.2. Universo y Muestra**

El universo de referencia son pacientes que asisten de manera ambulatoria o se encuentran hospitalizados en tres instituciones de prestación de servicios de salud en Bogotá, para recibir tratamiento especializado en psiquiatría por el trastorno mental: depresión mayor (DSM IV) y controles sin ninguna patología psiquiátrica.

La muestra probabilística del estudio corresponde a 195 individuos en total. La población de casos consistió de 77 pacientes que acudieron al servicio de psiquiatría de la Clínica Inmaculada, Clínica Retornar y la IPS de la Universidad del Rosario, en Bogotá. Con estas instituciones se estableció un acuerdo una vez el protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad del Rosario, para obtener la autorización para el proceso de reclutamiento de los pacientes de acuerdo a los criterios de selección. El grupo de controles estuvo conformado por 118 personas sin criterios clínicos de depresión mayor y que participaron de manera voluntaria en este estudio.

### **5.2.1. Muestra**

La población de referencia fueron pacientes diagnosticados de acuerdo a los criterios del DSM IV con trastorno depresivo mayor y los controles fueron individuos sin esta patología.

### **5.2.2. Tamaño de la muestra**

La muestra obtenida fue la recolectada en el periodo de tiempo determinada para reclutamiento de pacientes del presente proyecto. Durante 8 meses se invitaron a participar todos los pacientes de las instituciones colaboradoras del presente proyecto.

### **5.2.3. Criterios de selección**

### **5.2.3.1. Casos**

#### **5.2.3.1.1. Criterios de inclusión**

- Pacientes con historia o episodio actual de trastorno depresivo mayor
- Pacientes que deseen participar voluntariamente en el estudio
- Ambos sexos
- Mayor de edad

#### **5.2.3.1.2. Criterios de exclusión**

- Otras co-morbilidades psiquiátricas actuales.

### **5.2.3.2. Controles**

#### **5.2.3.2.1. Criterios de inclusión**

- Individuos sin historia personal ni familiar de Depresión Mayor.
- Pacientes que deseen participar voluntariamente en el estudio
- Ambos sexos
- Mayor de edad.

#### **5.2.3.2.2. Criterios de exclusión**

- Historia personal y/o familiar de cualquier patología psiquiátrica actual.

### **5.3. Reclutamiento de pacientes y recolección de información**

Los casos fueron reclutados por presentar episodio de Depresión Mayor según los criterios establecidos en el Manual de Diagnóstico Psiquiátrico en su cuarta versión revisada (DSM IV) en algún momento de la vida.

Cada individuo que aceptó participar voluntariamente en el estudio firmó un consentimiento informado diseñado para tal fin (Anexo 1 y Anexo 2).

Se recolectó la información personal de cada participante en un formato especial diseñado para tal fin (Anexo 3).

A cada individuo se le realizó la encuesta MINI (Mini-International Neuropsychiatric Interview) en los formatos especiales para esta (Anexo 4).

Estos formatos fueron archivados en la Unidad de Genética de la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad del Rosario y permanecen bajo la custodia de la Universidad.

Los pacientes continuaron con su manejo habitual por parte del médico tratante y los investigadores no hicieron ninguna modificación a los esquemas de manejo de estos pacientes.

Los médicos psiquiatras de la institución participante verificaron los criterios de inclusión y exclusión definidos en el proyecto con el fin de reclutar los pacientes que cumplieran dichos criterios.

Los pacientes fueron contactados personalmente por miembros del estudio. Se dio la explicación acerca de los objetivos y alcances del proyecto. Los pacientes que voluntariamente aceptaron participar en el estudio firmaron el consentimiento informado diseñado para tal fin.

Los individuos control que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión fueron incorporados a la investigación, luego de la firma del consentimiento informado.

A cada participante del estudio se le tomó una muestra de sangre (10 ml) para posterior extracción de DNA.

Un Médico Residente de Psiquiatría de la Universidad del Rosario realizó la evaluación inicial del participante por medio de la aplicación de Mini-

International Neuropsychiatric Interview (MINI) a todos los individuos con el objeto de confirmar el diagnóstico de Depresión Mayor en los casos y descartar la presencia de cualquier entidad psiquiátrica en los controles.

## **5.4. Métodos de laboratorio**

### **5.4.1. Toma de muestras**

Previo consentimiento informado del participante, se obtuvo una muestra de 10 ml de sangre venosa almacenada en un tubo con EDTA.

### **5.4.2. Extracción de ADN**

Tomando esta muestra de sangre se realizó la extracción de ADN genómico a partir de leucocitos de sangre periférica, de acuerdo, al método de Miller (*salting out*) (66), que consiste en:

1. Colocar 2.5ml de sangre periférica anticoagulada con EDTA en un tubo falcon de 15ml y adicionar 5ml de solución de Lisis para eritrocitos
2. Incubar la muestra en hielo por 20 minutos
3. Centrifugar a 5000 rpm durante 10 min
4. Descartar el sobrenadante y resuspender la pastilla de leucocitos en 3ml de solución de Lisis para eritrocitos
5. Incubar nuevamente en hielo por 15 minutos
6. Centrifugar a 5000 rpm durante 10 min
7. Eliminar el sobrenadante y lavar la pastilla con solución de Lisis para eritrocitos
8. Resuspender el botón en 750ul de solución de Lisis para células blancas
9. Adicionar 50ul de SDS al 10%, 15ul de proteinasa K (10mg/ml)
10. Incubar a 56°C por 3 horas
11. Agregar 500ul de NaCl saturado (6M)
12. Centrifugar por 20 min a 5000rpm
13. Transferir el sobrenadante a otro tubo y volver a centrifugar por 7min

14. Transferir el sobrenadante a otro tubo de 15 ml y precipitar el ADN con 2 volúmenes de etanol al 100%
15. Hacer movimientos suaves de balanceo hasta formar una mota homogénea y blanquecina
16. Centrifugar por 2 minutos a 5000rpm
17. Descartar el etanol dejar 12 horas el tubo abierto para permitir que el etanol se evapore
18. Adicionar 300ul de TE 1X o agua ultrapura mezclar durante 15min y guardar la mezcla en un tubo de eppendorf.
19. Finalmente se marcaron los tubos con el código de la muestra.

La muestra de ADN se cuantificó por medio de la determinación espectrofotométrica, con un NanoDrop 2000/2000c Spectrophotometer (67), para verificar su cantidad y pureza. Las muestra fueron almacenadas a -20°C hasta el momento de su procesamiento.

#### **5.4.3. Identificación de las variantes de secuencia de la región codificante de *COMT***

##### **5.4.3.1. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)**

Para este estudio se analizó toda la región codificante del gen, que corresponde a los exones 3, 4, 5 y 6. (ENST00000361618).

Los primers fueron diseñados mediante Primer3 y corresponden a la descripción de la tabla 1. Se realizó la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) siguiendo las condiciones descritas a continuación: 12,5ul de Master Mix (promegaU), 2ul de cada primer (10 pm/ul), 1ul de DNA (100 ng) y 7,5ul de agua ultrapura. Para el análisis de todos los exones se usó el siguiente programa de termociclador: desnaturalización inicial a 95 °C por 10 minutos, 30 ciclos de: desnaturalización parcial a 95°C por 40 segundos, hibridación a 61°C por 40 segundos, extensión a 72°C por 45 segundos y extensión final 72°C por 10 minutos

Exón	Nombre Primer	Secuencia	Producto esperado
Exón 3	huCOMTex3-1F	CACACACCTGCTCTGTCTACCC	589 pb
	huCOMTex3-1R	GATAACAGCTTCTCCTGTAAGGGC	
Exón 4	huCOMTex4-1F	GAGCATAGAGGCTAAGGGACCAT	740 pb
	huCOMTex4-1R	ACACACCCATACAAGCATTTCATCA	
Exón 5	huCOMTex5-1F	CTGATGAATGCTTGTATGGGTGTG	363 pb
	huCOMTex5-1R	TCTACTGGAATGCCTGGCTCTTTG	
Exón 6	huCOMTex6-1F	GAGTTGATGAGAGAAAGGTCCCTG	609 pb
	huCOMTex6-1R	AACAATCCAGTGTTGCAGTTCAGA	

**Tabla 1.** Cebadores (*primers*) para la amplificación de los exones 3, 4, 5 y 6

El producto de la PCR fue verificado en geles de agarosa al 1,2% teñidos con bromuro de etidio. En cada corrido electroforético se verificó el producto amplificado mediante la comparación con un marcador de peso de 100 pb (de invitrogen).

#### **5.4.3.2. Análisis de secuenciación de la región codificante de *COMT***

Los productos de PCR fueron purificados mediante fosfatasa alcalina y exonucleasa I antes de la secuenciación. Las reacciones de secuencia fueron realizadas con primers internos, diseñados con el software primer 3 (Tabla 2). La lectura de las secuencias fue realizada por duplicado mediante los programas Finch TV y Novo SNP. El análisis de las secuencias de nucleótidos

fue realizado a través de alineamientos múltiples usando el programa clustalW, comparando la secuencia de cada paciente con la *wild-type* para *COMT*. Los cromatogramas fueron analizados manualmente.

Las variantes de secuencia halladas en casos y controles fueron tamizadas en dbSNP para corroborar si habían sido previamente descritas. El alineamiento de las secuencias proteicas mutantes de *COMT* humanas con las de diferentes especies para verificar la conservación de los aminoácidos implicados en el cambio fue realizado ClustalW.

El análisis del potencial efecto deletéreo de los cambios no-sinónimos se realizó usando el programa Polyphen-2, el cual predice el posible impacto de la sustitución de un aminoácido en la estructura y la función de la proteína. Algunos de los parámetros usados por Polyphen2 son la comparación de secuencias de proteínas de diferentes especies ortólogas y parálogas y las características fisicoquímicas del cambio del residuo. Se realizó la determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes de secuencia halladas en casos y controles usando el programa estadístico SNPStats.

<b>Exón</b>	<b>Nombre Primer</b>	<b>Secuencia</b>
Exón 3	huCOMTex3-s1F	CAAGGCTGGCATTCTGAACCT
Exón 4	huCOMTex4-s1F	GACACCAGGGAGGTGAAATACC
Exón 5	huCOMTex5-1F	CTGATGAATGCTTGTATGGGTGTG
Exón 6	huCOMTex6-s1F	GTCTTGTACAGTCCTTTCCTGC

**Tabla 2.** Cebadores (*primers*) para la secuenciación de los exones 3, 4, 5 y 6

#### 5.4.4. Métodos de Control en la genotipificación

La genotipificación fue realizada de manera independiente por duplicado utilizando dos programas de lectura de secuencia diferentes. El 50% de los resultados totales fueron verificados por la codirectora del trabajo de tesis.

### 5.5. Análisis de la Información

La información recolectada (datos personales, demográficos, caracterización clínica-psiquiátrica y genotipificación) se registró y almacenó en una base de datos creada en el Programa Excel, la cual se analizó de acuerdo a los objetivos del estudio.

#### Descripción de variables

<b>Nombre de la variable</b>	<b>Definición Operativa de la Variable</b>	<b>Categorías, escala y código</b>	<b>Naturaleza / tipo / escala</b>
Edad	Edad en años cumplidos del paciente en el momento de la evaluación inicial	Años cumplidos	Cuantitativa / continua / de razón
Sexo	Sexo del paciente examinado	Masculino Femenino	Cualitativa / dicotómica
Estado civil	Tipo de estado civil del examinado	Soltero Casado Unión libre Viudo	Cualitativa / politómica
Estrato socio económico	Determinación del estrato socio económico del paciente a partir de nivel de SISBEN, afiliación a seguridad social y EPS o recibo de pago de servicio público de la vivienda.	1 2 3 4 5 6	Cuantitativa /ordinal

Alelo	Formas alternativas de un gen	Depende del SNP analizado	Cualitativa/ Nominal
Genotipo	Información genética de un individuo para determinado polimorfismo. Compuesto por dos alelos	Depende del SNP analizado	Cualitativa/ Nominal
Haplotipos	Conjunto de alelos que se encuentran ubicados en el mismo cromosoma (paterno o materno)	Múltiples combinaciones de alelos	Cualitativo/ Nominal

**Tabla 3.** Variables utilizadas en el estudio

### 5.5.1. Métodos de control de sesgo y error

Posible Sesgo	Control
Sesgo de selección	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Seguimiento estricto de los criterios establecidos en el DSM – IV R.</li> <li>• Seguimiento estricto de los criterios establecidos en la aplicación de la entrevista MINI</li> <li>• Se cumplirán a cabalidad los criterios de exclusión</li> <li>• Se incluirán controles que cumplan criterios de apareamiento con respecto a edad, sexo y estrato socio-económico</li> </ul>
Variables de confusión	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los criterios de exclusión incluyen el padecer otras enfermedades psiquiátricas.</li> <li>• La presencia de historia de otras comorbilidades</li> </ul>

	<p>psiquiátricas se evaluará a través de la entrevista MINI</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Características de la población como uso y/o abuso de sustancias psicoactivas y alcohol serán evaluadas a través del MINI.</li> </ul>
Sesgo de información	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enmascaramiento de la exposición: los encargados de realizar los controles y los pacientes desconocerán el resultado del genotipo hasta finalizar el estudio.</li> <li>• A todos los pacientes se les aplicará el mismo instrumento para obtención de los datos (DSM- IV R y entrevista MINI).</li> <li>• Se realizará un entrenamiento previo de la aplicación de los instrumentos al personal que vaya a aplicarlos.</li> </ul>

**Tabla 4.** Posibles sesgos y métodos de control de los mismos

### 5.5.2. Análisis Estadístico

Para garantizar la validez interna del estudio se controló el sesgo de información acerca del genotipo de los pacientes, tanto en los investigadores como en los pacientes participantes durante el proceso de recolección de información y seguimiento. Esto se logró mediante el cegamiento de investigadores, pacientes y psiquiatras remitentes de pacientes acerca de la información genética de *COMT* de cada paciente. Sólo en la última etapa del análisis estadístico los investigadores conocieron el genotipo de los pacientes participantes.

La unidad de análisis está constituida por los datos individuales de cada paciente participante en el estudio. Con la base de datos creada en Excel (Microsoft Office) se realizó el análisis estadístico usando el Programa SPSS (68), versión 15.0 para Windows, el programa SNPStats (69) y el paquete de análisis estadístico genético PLINK (70). Estos dos últimos permiten realizar el

análisis de asociación de los alelos y genotipos de polimorfismos independientes con el fenotipo de depresión (EDM) y endofenotipos (endofenotipo es un subtipo neurobiológico de una enfermedad)(57), del mismo como Episodio Depresivo Mayor recidivante (EDMR) y Episodio Depresivo Mayor con Melancolía, ambos evaluados también dentro de la entrevista MINI, y que podrían aportar información adicional para este estudio. Por otro lado, se utilizó también el programa Haploview (71) que permite dentro de sus muchas aplicaciones, la identificación de bloques haplotípicos del gen *COMT* y su asociación con la depresión.

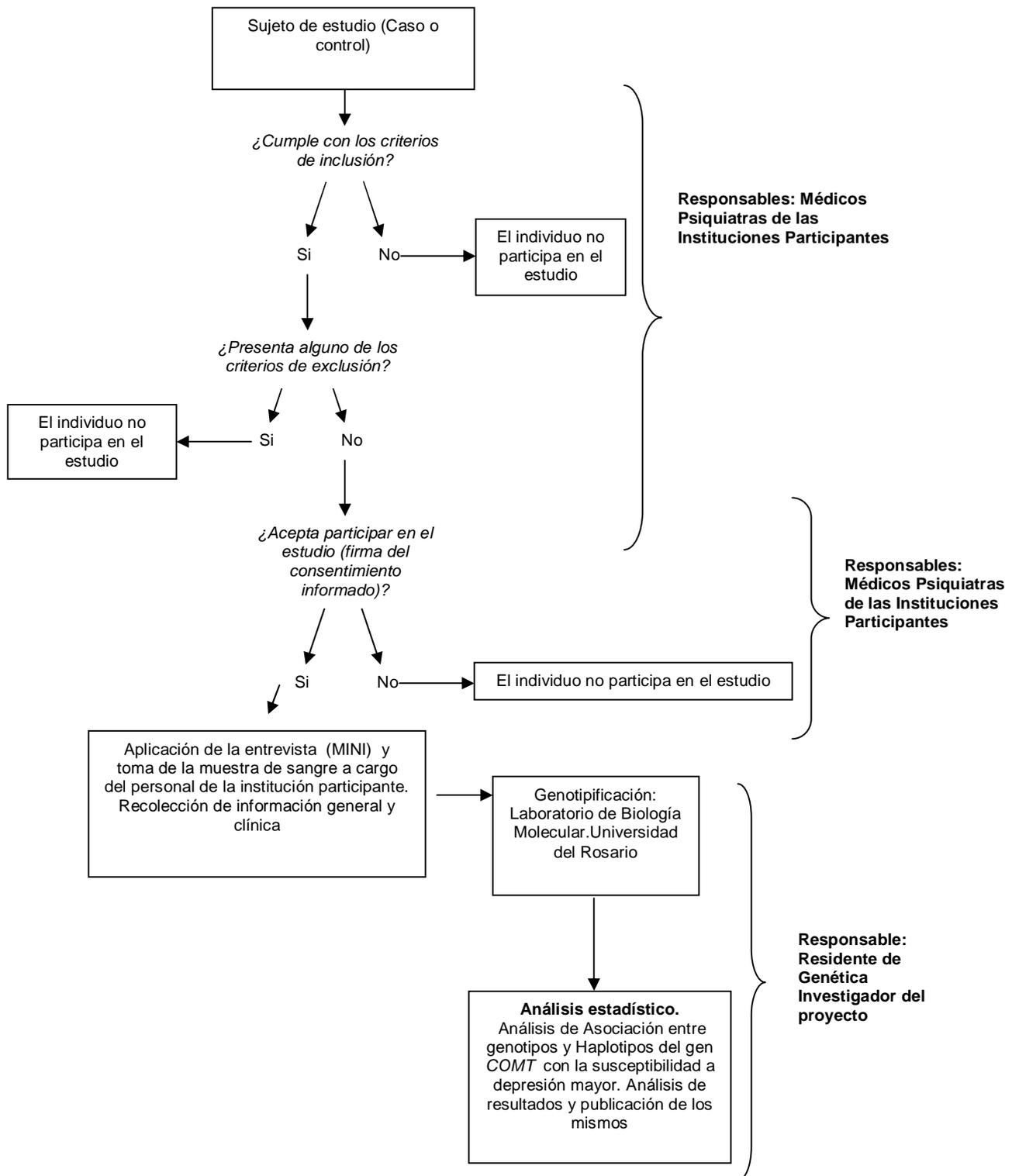
La primera etapa del análisis estadístico consistió en la caracterización demográfica de los sujetos de estudio, seguido por el cálculo de frecuencias de cada variable estudiada; las proporciones en las variables cualitativas y el promedio, desviación estándar, mediana y moda en las variables cuantitativas.

Posteriormente se realizó el análisis bivariante calculando medidas de asociación como el OR y su respectivo intervalo de confianza del 95 %. Se utilizó el análisis multivariado para el control de variables de confusión mediante el modelo de análisis de varianza de medidas repetidas para observar cambios intra-sujeto, intragrupal e intergrupales y ajustando por las covariables o variables de confusión del modelo multivariado.

Luego de interrumpir el cegamiento de la información genética, se realizó un análisis para establecer las frecuencias alélicas, genotípicas y el equilibrio de Hardy Weinberg, así como la asociación entre los genotipos y haplotipos de los polimorfismos encontrados en el gen *COMT* y la depresión mayor a través de una prueba de chi cuadrado.

Finalmente se realizó un alineamiento de la proteína con otras especies usando el programa UniprotKB, para identificar si los SNPs no sinónimos se encuentran en una región conservada o no.

## 5.6. Resumen metodológico



## **6. ASPECTOS ÉTICOS**

Este estudio corresponde a una investigación con riesgo mínimo ya que incluye extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud (72). Se obtuvo la aprobación del Comité de Ética de la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad del Rosario.

El presente estudio no incluyó la administración o modificación de los esquemas de tratamiento de los pacientes participantes en la investigación. Se siguieron y respetaron las normas establecidas para la investigación en humanos, definidas en la normativa nacional e internacional y la Declaración de Helsinki y sus revisiones posteriores.

La información fue manejada con carácter de confidencialidad. No se registró información de tal forma que se pueda identificar a algún individuo a partir de los datos registrados. Igualmente, la presentación de los resultados fue manejada por conglomerados, de manera anónima, para proteger la identidad de cada uno de los individuos participantes.

La realización del estudio cumplió con la normatividad establecida por la Resolución 8430 del Ministerio de Protección Social (antiguo Ministerio de Salud), que reglamenta los aspectos éticos de la investigación en seres humanos en nuestro país (72).

## **7. RESULTADOS**

### **7.1. Caracterización Demográfica**

El total de la población estudiada fue de 195 personas participantes de los cuales 77 corresponden a casos y 118 a controles. Las características demográficas nominales se describen en la tabla 5.

	Población total		Casos		Controles	
	n	%	n	%	n	%
<b>Genero</b>						
Masculino	31	15,9	14	18,2	17	14,4
Femenino	164	84,1	63	81,8	101	85,6
<b>Nivel Educativo</b>						
Ninguno	1	0,5	1	1,3	0	0
Primaria	21	10,8	18	23,4	3	2,5
Secundaria	38	19,5	16	20,8	22	18,6
Técnico	30	15,4	9	11,7	21	17,8
Profesional	59	30,3	23	29,9	36	30,5
Posgrado	46	23,6	10	13	36	30,5
<b>Estado civil</b>						
Soltero(a)	93	47,7	31	40,3	62	52,5
Divorciado(a)	19	9,7	12	15,6	7	5,9
Casado(a)	56	28,7	23	29,9	33	28
Unión Libre	24	12,3	9	11,7	15	12,7
Viudo(a)	3	1,5	2	2,6	1	0,8
<b>Estrato Socioeconómico</b>						
1	2	1	1	1,3	1	0,8
2	39	20	21	27,3	18	15,3
3	77	39,5	31	40,3	46	39
4	52	26,7	17	22,1	35	29,7
5	17	8,7	5	6,5	12	10,2
6	8	4,1	2	2,6	6	5,1

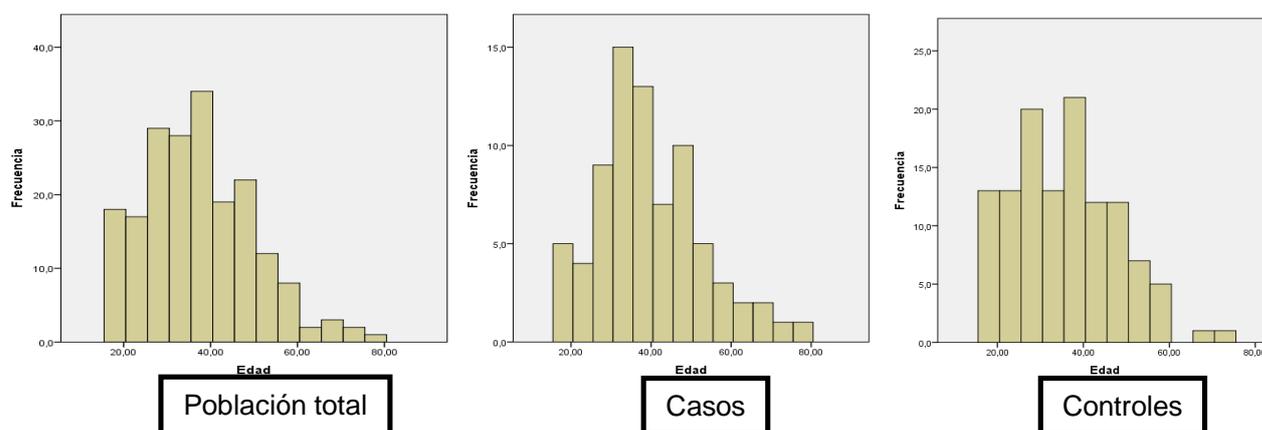
**Tabla 5.** Características demográficas de la población de estudio

Las variables cuantitativas correspondientes a la caracterización demográfica se describen a continuación:

La tabla 6 y la figura 2 muestran la distribución de edad en la población de estudio total, en los casos y en los controles.

	<b>Población Total</b>	<b>Casos</b>	<b>Controles</b>
<b>Mínimo</b>	18 años	18 años	18 años
<b>Máximo</b>	79 años	79 años	71 años
<b>Promedio</b>	37,4 años	39,8 años	35,96 años

**Tabla 6.** Características de la edad en la población de estudio

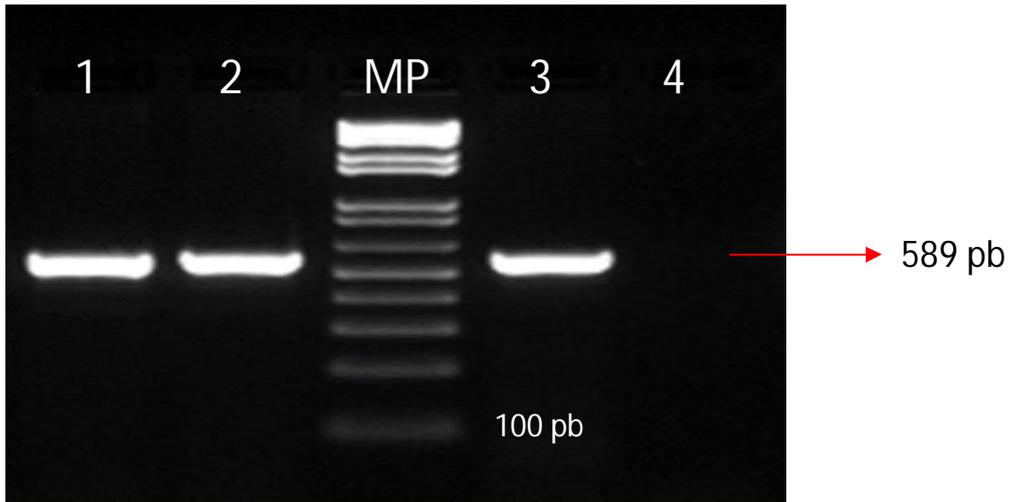


**Figura 2.** Distribución de edad en la población de estudio

## 7.2. Caracterización Genética

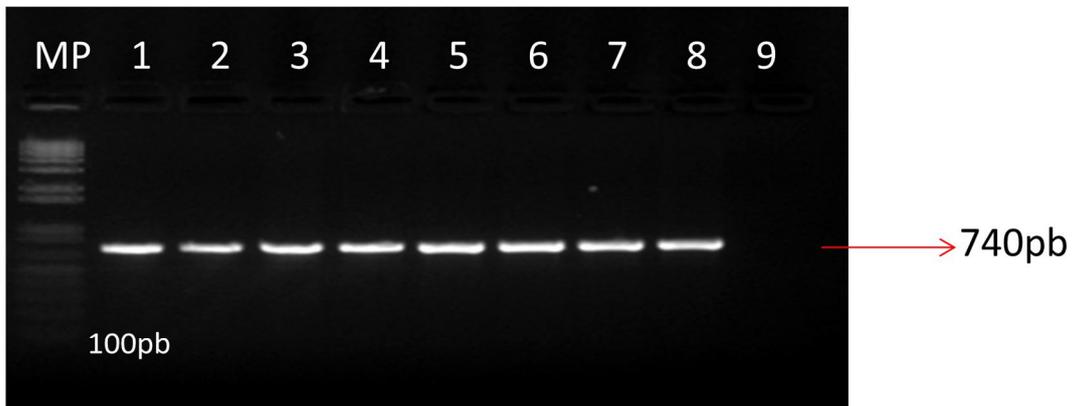
### 7.2.1. Productos amplificados obtenidos en la PCR de la región codificante de *COMT*

En las figuras 3, 4, 5 y 6 se observan los resultados de PCR de los exones 3, 4, 5 y 6. Los pesos moleculares esperados están descritos en la sección de materiales y métodos.



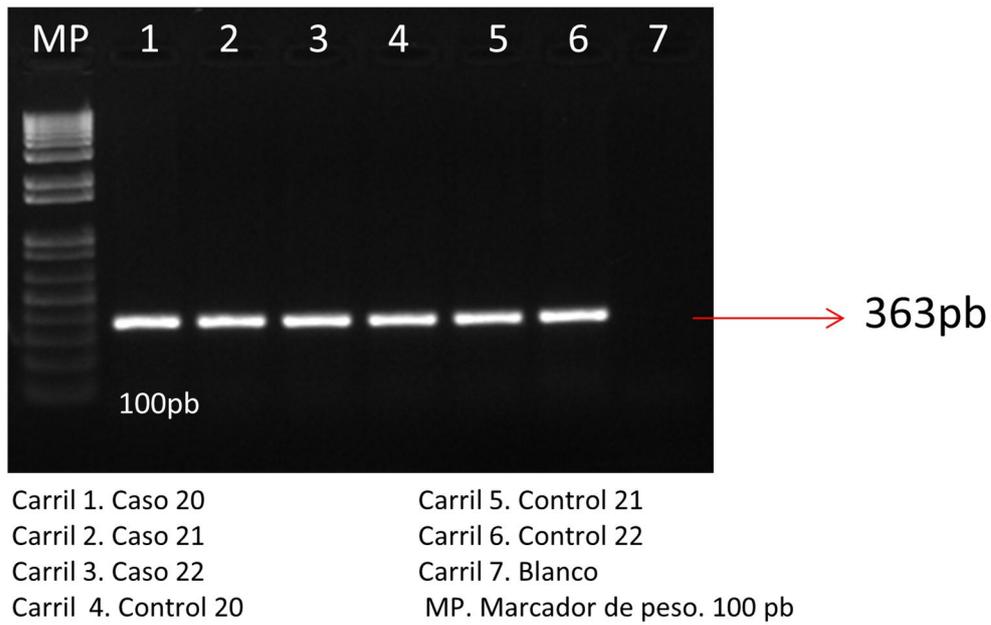
Carril 1. Caso 21  
 Carril 2. Caso 22  
 Carril 3. Control 21  
 Carril 4. Blanco  
 MP. Marcador de peso. 100 pb

**Figura 3.** Productos amplificados del exón 3

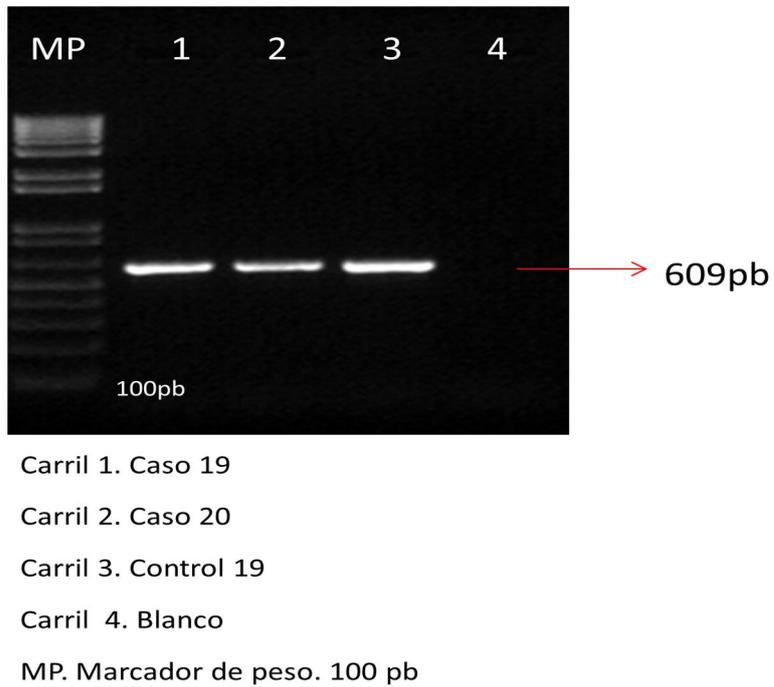


Carril 1. Caso 19	Carril 6. Control 20
Carril 2. Caso 20	Carril 7. Control 21
Carril 3. Caso 21	Carril 8. Control 22
Carril 4. Caso 22	Carril 9. Blanco
Carril 5. Control 19	MP. Marcador de peso. 100 pb

**Figura 4.** Productos amplificados del exón 4



**Figura 5.** Productos amplificados del exón 5



**Figura 6.** Productos amplificados del exón 6

## 7.2.2. Descripción de los SNP identificados en la población de estudio

En la población de estudio fueron identificados 11 SNPs localizados en los exones 3, 4 y 5 Del total analizado 7 fueron sinónimos y 4 no sinónimos (Tabla 7).

EXON	SNP	TIPO DE CAMBIO	DNA CODIFICANTE	PROTEINA
Exón 3	rs4633	SINONIMO	c.186C>T	p.H62H
	rs740602	SINONIMO	c.219G>A	p.Q73Q
	rs6267	NO SINONIMO	c.214G>T	p.A72S
	rs375558228	SINONIMO	c.201G>A	p.A67A
	rs138628382	NO SINONIMO	c.94G>A	p.G32S
Exón 4	rs4818	SINONIMO	c.408C>G	p.L136L
	rs4680	NO SINONIMO	c.472G>A	p.V158M
	rs199710929	NO SINONIMO	c.373C>T	p.R125C
	rs8192488	SINONIMO	c.438C>T	p.A146A
Exón 5	rs769224	SINONIMO	c.597G>A	p.P199P
	rs165631	SINONIMO	c.609C>T	p.L203L

**Tabla 7.** Características de los 11 SNPs encontrados en el presente estudio.

### 7.2.2.1. rs4633

Este SNP (c.186C>T) corresponde a un cambio de una Citosina por una Timina en la posición 186 del cDNA. Se encuentra ubicado en el Exón 3. Por ser un SNP sinónimo no genera un cambio de aminoácido y es así como en la proteína veremos una Histidina en la posición 62 tanto en el alelo *wild-type* como en el alelo que contiene el polimorfismo. Las tablas 8 y 9 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
C	241	0.62	96	0.62	145	0.62
T	147	0.38	58	0.38	89	0.38

**Tabla 8.** Frecuencias alélicas del SNP rs4633

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)
C/C	76	39	0.76	29	37,7	0.81	47	39,8	0.43
C/T	89	45,6		38	49,4		51	43,2	
T/T	29	14,9		10	13		19	16,1	
Sin datos	1	0,5	NA	0	0	NA	1	0,8	NA

**Tabla 9.** Frecuencias genotípicas del SNP rs4633

HWE = Equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0.05$ )

### 7.2.2.2. rs740602

Este SNP (c.219G>A) corresponde a un cambio en la posición 219 del cDNA de una Guanina por un Adenina y se encuentra ubicado en el Exón 3. Al ser este un SNP sinónimo no altera la secuencia de aminoácidos de la proteína y se observa una Glutamina tanto en el alelo *wild-type* como en portador del polimorfismo. Las tablas 10 y 11 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
G	376	0.97	148	0.96	228	0.97
A	12	0.03	6	0.04	6	0.03

**Tabla 10.** Frecuencias alélicas del SNP rs740602

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)
G/G	182	93,3	1	71	92,2	1	111	94,1	1
G/A	12	6,2		6	7,8		6	5,1	
A/A	0	0		0	0		0	0	
Sin datos	1	0,5	NA	0	0	NA	1	0,8	NA

**Tabla 11.** Frecuencias genotípicas del SNP rs740602

HWE = Equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0.05$ )

### 7.2.2.3. rs6267

Este SNP (c.214G>T) presenta un cambio de una Guanina por una Timina en la posición 214 del cDNA y se encuentra ubicado en el Exón 3. Ocasiona el cambio en un aminoácido en la posición 72 de una Alanina por una Serina. Las tablas 12 y 13 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
G	383	0.99	151	0.98	232	0.99
T	5	0.01	3	0.02	2	0.01

**Tabla 12.** Frecuencias alélicas del SNP rs6267

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE ( $p$ )	n	%	HWE ( $p$ )	n	%	HWE ( $p$ )
G/G	189	96,9	1	74	96,1	1	115	97,5	1
G/T	5	2,6		3	3,9		2	1,7	
T/T	0	0		0	0		0	0	
Sin datos	1	0,5	NA	0	0	NA	1	0,8	NA

**Tabla 13.** Frecuencias genotípicas del SNP rs6267

HWE = Equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0.05$ )

### 7.2.2.4. rs375558228

Este SNP (c.201G>A) es sinónimo, se encuentra ubicado en el Exón 3 y aunque presenta un cambio en la secuencia de cDNA en la posición 201 con el reemplazo de una Guanina por una Adenina, no genera cambio en la posición

67 de la proteína donde siempre se encuentra una Alanina tanto en el alelo *wild-type* como en el alelo con el polimorfismo. Las tablas 14 y 15 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
G	387	1	153	0.99	234	1
A	1	0	1	0.01	0	0

**Tabla 14.** Frecuencias alélicas del SNP rs375558228

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE ( $p$ )	n	%	HWE ( $p$ )	n	%	HWE ( $p$ )
G/G	193	99	1	76	98,7	1	117	99,2	1
G/A	1	0,5		1	1,3		0	0	
A/A	0	0		0	0		0	0	
Sin datos	1	0,5	NA	0	0	NA	1	0,8	NA

**Tabla 15.** Frecuencias genotípicas del SNP rs375558228

HWE = Equilibrio de Hardy Weinberg ( $p>0.05$ )

#### 7.2.2.5. rs138628382

Este corresponde a un SNP (c.94G>A) no sinónimo que se encuentra localizado en el Exón 3. En la posición 94 del cDNA hay un cambio de una Adenina por una Guanina, que a su vez altera en la proteína la posición 32 donde una Glicina es sustituida por una Serina. Las tablas 16 y 17 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
G	387	1	153	0.99	234	1
A	1	0	1	0.01	0	0

**Tabla 16.** Frecuencias alélicas del SNP rs138628382

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)
G/G	193	99	1	76	98,7	1	117	99,2	1
G/A	1	0,5		1	1,3		0	0	
A/A	0	0		0	0		0	0	
Sin datos	1	0,5	NA	0	0	NA	1	0,8	NA

**Tabla 17.** Frecuencias genotípicas del SNP rs138628382

HWE = Equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0.05$ )

#### 7.2.2.6. rs4818

Es un SNP (c.408C>G) que se encuentra ubicado en el Exón 4. Consistente en un cambio de una Citosina localizada en la posición 408 del cDNA por una Guanina. Esta variación no genera cambio de aminoácido en la proteína, pues en la posición 136 continua una Leucina tanto en el alelo *wild-type* como en el polimorfismo. Las tablas 18 y 19 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
C	282	0.74	110	0.72	172	0.75
G	100	0.26	42	0.28	58	0.25

**Tabla 18.** Frecuencias alélicas del SNP rs4818

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)
C/C	108	55,4	0,14	43	55,8	0,083	65	55,1	0,8
C/G	66	33,8		24	31,2		42	35,6	

G/G	17	8,7		9	11,7		8	6,8	
Sin datos	4	2,1	NA	1	1,3	NA	3	2,5	NA

**Tabla 19.** Frecuencias genotípicas del SNP rs4818

HWE = Equilibrio de Hardy Weinberg ( $p>0.05$ )

### 7.2.2.7. rs4680

Este SNP (c.472G>A) no sinónimo, localizado en el Exón 4, consiste en un cambio en la posición 472 de una Guanina por una Adenina, que produce el reemplazo del aminoácido Valina en la posición 158 de la proteína por una Metionina. Las tablas 20 y 21 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
G	238	0.62	94	0.62	144	0.63
A	144	0.38	58	0.38	86	0.37

**Tabla 20.** Frecuencias alélicas del SNP rs4680

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE ( $p$ )	n	%	HWE ( $p$ )	n	%	HWE ( $p$ )
G/G	75	38,5	0,76	28	36,4	0,81	47	39,8	0,43
G/A	88	45,1		38	49,4		50	42,4	
A/A	28	14,4		10	13		18	15,3	
Sin datos	4	2,1	NA	1	1,3	NA	3	2,5	NA

**Tabla 21.** Frecuencias genotípicas del SNP rs4680

HWE = Equilibrio de Hardy Weinberg ( $p>0.05$ )

### 7.2.2.8. rs199710929

Este SNP (c.373C>T), ubicado en el Exón 4 el gen, corresponde a un cambio de una citosina en la posición 373 del cDNA por una Timina. En la proteína se genera un cambio en la posición 125 de la proteína con el reemplazo de una Arginina por una Cisteína, por lo tanto es un SNP no sinónimo. Las tablas 22 y 23 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
C	381	1	151	0.99	230	1
T	1	0	1	0.01	0	0

**Tabla 22.** Frecuencias alélicas del SNP rs199710929

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE ( <i>p</i> )	n	%	HWE ( <i>p</i> )	n	%	HWE ( <i>p</i> )
C/C	190	97,4	1	75	97,4	1	115	97,5	1
C/T	1	0,5		1	1,3		0	0	
T/T	0	0		0	0		0	0	
Sin datos	4	2,1	NA	1	1,3	NA	3	2,5	NA

**Tabla 23.** Frecuencias genotípicas del SNP rs199710929

HWE = Equilibrio de Hardy Weinberg ( $p > 0.05$ )

### 7.2.2.9. rs8192488

Es un SNP que mapea en el Exón 4, que se presenta como una variante (c.438C>T), en la que la Citosina localizada en la posición 438 del cDNA es reemplazada por una Timina. No se genera cambio de aminoácido en la proteína porque la Alanina presente en la posición 146 no cambia en el alelo

*wild-type* ni en el polimorfismo. Las tablas 24 y 25 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
C	380	0.99	151	0.99	229	1
T	2	0.01	1	0.01	1	0

**Tabla 24.** Frecuencias alélicas del SNP rs8192488

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE ( $p$ )	n	%	HWE ( $p$ )	n	%	HWE ( $p$ )
C/C	189	96,9	1	75	97,4	1	114	96,6	1
C/T	2	1		1	1,3		1	0,8	
T/T	0	0		0	0		0	0	
Sin datos	4	2,1	NA	1	1,3	NA	3	2,5	NA

**Tabla 25.** Frecuencias genotípicas del SNP rs8192488

HWE = Equilibrio de Hardy Weinberg ( $p>0.05$ )

#### 7.2.2.10. rs769224

Este SNP (c.597G>A) se localiza en el Exón 5 y causa un cambio en la posición 597 en cDNA con el reemplazo de una Guanina por una Adenina. No hay cambios en la cadena proteica dado que en la posición 199 se encuentra una Prolina tanto en el alelo *wild-type* como en el alelo del polimorfismo. Las tablas 26 y 27 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
G	380	0.97	149	0.97	231	0.98
A	10	0.03	5	0.03	5	0.02

**Tabla 26.** Frecuencias alélicas del SNP rs769224

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)
G/G	185	94,9	1	72	93,5	1	113	95,8	1
G/A	10	5,1		5	6,5		5	4,2	
A/A	0	0		0	0		0	0	

**Tabla 27.** Frecuencias genotípicas del SNP rs769224

HWE = Equilibrio de Hardy Weinberg ( $p > 0.05$ )

#### 7.2.2.11. rs165631

Es un SNP (c.609C>T), presente en el Exón 5 que codifica un cambio de Citosina por Timina en la posición 609 del cDNA. No hay cambio de aminoácido en la posición 203, donde los dos alelos, *wild-type* y polimórfico presentan una Leucina. Las tablas 28 y 29 muestran las frecuencias alélicas y genotípicas para este polimorfismo.

Alelo	Población Total		Casos		Controles	
	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
C	388	0.99	153	0.99	235	1
T	2	0.01	1	0.01	1	0

**Tabla 28.** Frecuencias alélicas del SNP rs165631

Genotipo	Población Total			Casos			Controles		
	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)	n	%	HWE (p)
C/C	193	99	1	76	98,7	1	117	99,2	1
C/T	2	1		1	1,3		1	0,8	
T/T	0	0		0	0		0	0	

**Tabla 29.** Frecuencias genotípicas del SNP rs165631

HWE = Equilibrio de Hardy Weinberg ( $p > 0.05$ )

### 7.2.3. Análisis de asociación de los polimorfismos identificados en *COMT* y el fenotipo de depresión mayor

Mediante *SNPStats* (69), se realizó el análisis de asociación de *COMT* y depresión con el diseño de casos y controles. La comparación de las frecuencias genotípicas no indicó diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos para ninguno de los SNP identificados en el gen *COMT* (Tabla 30)

SNP	EDM ( <i>p</i> )
rs4633	0.43
rs740602	0.46
rs6267	0.35
rs375558228	0.17
rs138628382	0.17
rs4818	0.25
rs4680	0.38
rs199710929	0.17
rs8192488	0.77
rs769224	0.49
rs165631	0.76

**Tabla 30.** Evaluación de la asociación entre los 11 SNPs del gen *COMT* con EDM ( $p < 0.05$ ).

### 7.2.4. Análisis de asociación de los polimorfismos de *COMT* y los endofenotipos de TDM.

En adición, se hizo un análisis de asociación con algunos endofenotipos de TDM como el Episodio Depresivo Mayor Recidivante y el Episodio Depresivo Mayor con Melancolía. Los resultados no evidenciaron asociación del gen con ninguno de los endofenotipos analizados (Tabla 31).

<b>SNP</b>	<b>EDMR (p)</b>	<b>EDM con melancolía (p)</b>
<b>rs4633</b>	0.27	0.76
<b>rs740602</b>	0.74	0.74
<b>rs6267</b>	0.33	0.59
<b>rs375558228</b>	0.77	0.11
<b>rs138628382</b>	0.49	0.11
<b>rs4818</b>	0.83	0.55
<b>rs4680</b>	0.30	0.92
<b>rs199710929</b>	0.49	0.11
<b>rs8192488</b>	0.32	0.53
<b>rs769224</b>	0.93	0.31
<b>rs165631</b>	0.36	0.24

**Tabla 31.** Evaluación de la asociación entre los 11 SNPs del gen *COMT* con los endofenotipos de EDM, recidivante (EDMR) y con melancolía ( $p < 0.05$ ).

#### **7.2.5. Determinación de los haplotipos del gen *COMT* y análisis de asociación con el fenotipo de TDM.**

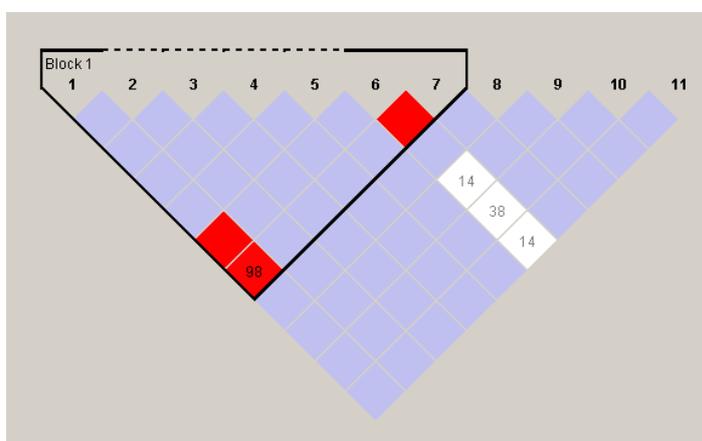
A través de PLINK (70) y Haploview (71) se realizó el análisis de los haplotipos del gen en la población de estudio. De los haplotipos identificados 7 presentaron frecuencia mayor a 1%. Tres de ellos fueron representativos en las dos poblaciones casos y controles (ver tabla 32).

No se encontró asociación de alguno de los haplotipos identificados con la enfermedad. El orden de los SNP dentro del haplotipo corresponde a: rs4633|rs740602|rs6227|rs375558228|rs138628382|rs4818|rs4680|rs199710929|rs8192488|rs769224|rs165631.

Haplotipo	Frecuencia (%) Población Total	Frecuencia (%) Casos	Frecuencia (%) Controles	Valor de $p$
TGGGGCACCGC	36,9	37.6	37,2	0.9
CGGGGCGCCGC	29,9	24.5	33.1	0.1
CGGGGGGCGCCGC	24,6	26.1	22.7	0.6
CAGGGCGCCGC	3,2	3.9	2.5	0.4
CGGGGGGCCAC	1,2	1	1.5	0.7
CGGGGCGCCAC	1,1	2.1	0.6	0.4
CGTGGCGCCGC	1,1	1.3	0.8	0.6

**Tabla 32.** Haplotipos del gen *COMT* ( $p < 0.05$ )

La figura 7 evidencia los bloques haplotípicos y los SNPs que se encuentran en desequilibrio de ligamiento (rs4633|rs4818|rs4680) los cuales al analizar por separado, es decir, en un bloque haplotípico independiente, tampoco se encuentran asociados con la depresión mayor (Tabla 33).

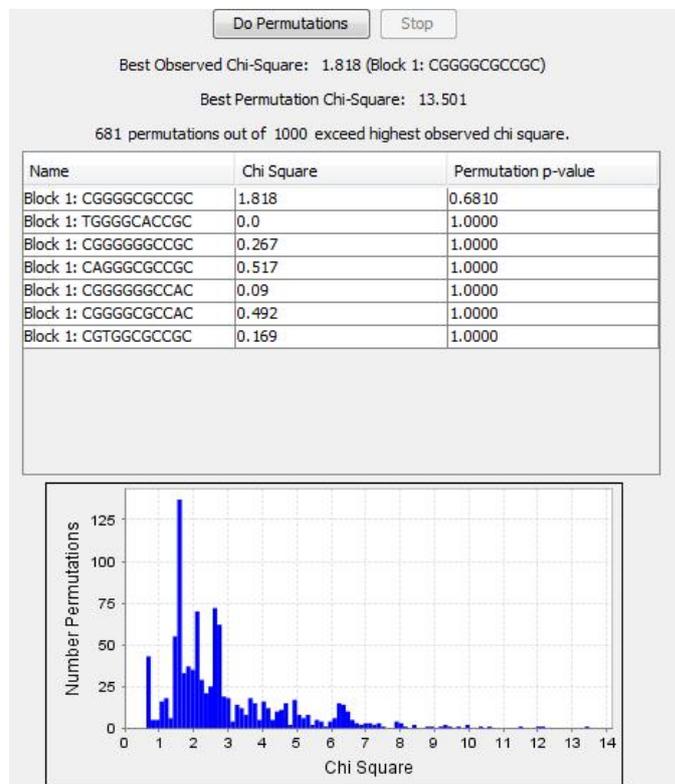


**Figura 7.** Bloque haplotípico de 3 SNPs en Desequilibrio de Ligamiento.

Haplotype	Freq.	Case, Control Ratios	Chi Square	p value
<b>Haplotype Associations</b>				
<b>Block 1</b>				
TCA	0.374	58.0 : 96.0, 88.0 : 148.0	0.006	0.9391
CCG	0.361	53.2 : 100.8, 87.7 : 148.3	0.285	0.5936
CGG	0.259	42.8 : 111.2, 58.2 : 177.8	0.476	0.4902

**Tabla 33.** Bloque haplotípico encontrados en Desequilibrio de Ligamiento ( $p < 0.05$ )

Después de realizar (usando *Haploview* (71)) un análisis de 1.000 permutaciones con los datos obtenidos, se encontró nuevamente que no hay asociación de ninguno de los haplotipos del gen *COMT* con la depresión mayor (ver figura 8).



**Figura 8.** Permutaciones x 1000 de los haplotipos encontrados en el gen *COMT*

### 7.2.6. Comparación de las frecuencias alélicas de los SNP identificados en el presente estudio con población a nivel mundial

Todos los SNPs del gen *COMT* (ENST00000361618 ) estudiados en el presente trabajo se encuentran asignados y curados en la base de datos genómicos

ENSEMBL, la cual ofrece información detallada de cada gen y de los SNPs, así como dispone de herramientas para el análisis de datos y publica de manera actualizada datos de genética de poblaciones que sirven de referencia para estudios comparativos (73). En ENSEMBL (<http://www.ensembl.org>) se presentan las frecuencias alélicas para distintas poblaciones a nivel mundial y se adicionan las que resultan del proyecto de los 1000 genomas. Las regiones del planeta se dividen en: África, Asia, América y Europa; dentro de la población de América están representadas sub-poblaciones de países así: Colombia, Costa Rica y México. Para la población de Colombia la muestra es tomada en Medellín. Se realizó la comparación de las frecuencias alélicas de la población control (118 individuos) de los SNP rs740602, rs4818, rs4680, rs8192488 y rs165631 con los reportes a nivel mundial (Tabla 34).

SNP	ALELO	PRESENTE ESTUDIO CONTROLES %	ENSEMBL %	PRUEBA Chi 2	Valor de (p)
rs740602	G	97	98	0,01	0,92
	A	3	2	0,50	0,48
rs4818	C	75	61	3,21	0,07
	G	25	39	5,03	0,02
rs4680	G	63	62	0,02	0,90
	A	37	38	0,03	0,87
rs8192488	C	100	98	0,04	0,84
	T	0	2	2,00	0,16
rs165631	C	100	96	0,17	0,68
	T	0	4	4,00	0,05

**Tabla 34.** Comparación de frecuencias alélicas de SNP del gen *COMT* a nivel mundial ( $p>0.05$ )

La comparación de las frecuencias alélicas reportadas por ENSEMBL y las encontradas en el presente estudio en los controles indicó diferencia significativa solo para el alelo G de rs4818 con una  $p=0.02$ . (Tabla 34).

Para los SNPs, rs4633 y rs769224, en la población de control del presente estudio, se hallaron frecuencias alélicas iguales a las publicadas por ENSEMBL para Colombia.

Si bien para el rs6267 no se informa en la muestra de ENSEMBL (73) la presencia del alelo T en su muestra, esto puede deberse a un estrecho tamaño del número de muestras; la presencia del alelo T en el grupo control del presente estudio con una frecuencia del 1% refleja la baja frecuencia de esta alelo en la población colombiana. En otras poblaciones latinoamericanas la frecuencia del alelo T oscila entre el 1 y 4%, en Asia, en general, es del 4%, mientras que en Europa es del 1% y para todas las poblaciones, en promedio, es del 2%. (Tabla 35)

SNP	ALELO	PRESENTE ESTUDIO %	ENSEMBL %
rs6267	G	99	100
rs6267	T	1	0

**Tabla 35.** Frecuencias alélicas de rs6267 de ENSAMBL y las encontradas en nuestro estudio en controles ( $p < 0.05$ ).

Para los polimorfismos rs138628382, rs375558228 y rs199710929 del gen *COMT*, no se han informado para nuestro país las frecuencias alélicas, por lo que se presentan, por vez primera.

### 7.2.7. Alineamiento de los SNP no sinónimos del gen *COMT* identificados en la población de estudio y determinación In Silico de su patogenicidad

También se realizó un alineamiento de la proteína usando el programa UniprotKB, en cinco especies, dentro de las cuales está *Mus musculus* (Ratón), *Macaca mulatta* (Rhesus macaque), *Bos taurus* (Bovino), *Equus caballus* (Caballo) y *Sus scrofa* (Cerdo), se encontró un porcentaje de identidad de 44.93%, por medio de este se logró identificar que los cuatro SNPs no sinónimos identificados en este estudio, rs6267, rs138628382, rs4680 y rs199710929 se encuentran en ciertas regiones conservadas de la proteína, en diferentes proporciones, siendo la ubicación del rs199710929 la región más

altamente conservada de todas, lo que podría llevar a pensar que son funcionalmente importantes, los aminoácidos específicos de cada posición se describen en la tabla 36.

<b>ESPECIE</b>	<b>rs6267 p.72</b>	<b>rs138628382 p.32</b>	<b>rs4680 p.158</b>	<b>rs199710929 p.125</b>
<i>Homo sapiens</i> (Humano)	A	G	V	R
<i>Macaca mulatta</i> (Rhesus macaque)	A	G	M	R
<i>Mus musculus</i> (Ratón)	P	G	L	R
<i>Bos taurus</i> (Bovino)	P	–	L	R
<i>Equus caballus</i> (Caballo)	P	–	L	R
<i>Sus scrofa</i> (Cerdo)	P	–	L	R

**Tabla 36.** Aminoácidos ubicados en la posición de los cuatro SNP no sinónimos, observados en cinco especies diferentes.

Según lo reportado por ENSEMBL, el posible daño en la proteína de los cuatro SNPs no sinónimos encontrados en el presente estudio rs6267, rs138628382, rs4680 y rs199710929, con las predicciones de Polyphen-2 y SIFT, que se muestran en la tabla 37. Se evidencia a solo dos rs6267 y rs199710929, de los cuatro cambios generando un posible daño a nivel de la proteína, los otros dos rs138628382 y rs4680 no presentaría daño a nivel de la proteína.

EXON	SNP	PolyPhen-2	SIFT
Exón 3	<b>rs6267</b>	Posible daño	Deletéreo
	<b>rs138628382</b>	Benigno	Tolerado
Exón 4	<b>rs4680</b>	Benigno	Tolerado
	<b>rs199710929</b>	Posible daño	Deletéreo

**Tabla 37.** Predicción de daño en la proteína según Polyphen-2 y SIFT.

### 7.2.8. Asociación de variables no genéticas al fenotipo TDM

Después de realizar un Análisis de Regresión Logística por medio de la aplicación de computador (*software*) SPSS (68) tomando al TDM como la variable dependiente, se observó que las variables independientes asociadas a esta son, la edad ( $p=0,03$ ), el género ( $p=0,003$ ), el nivel educativo ( $p=0,002$ ), el

hábito de fumar ( $p=0,01$ ) y del consumo de alcohol ( $p=0,002$ ). Las variables independientes que no se asociaron a TDM fueron: el estado civil, el índice de masa corporal (IMC), el estrato socioeconómico y el consumo de sustancias psicoactivas, además de los 11 SNPs que no presentaron tampoco ningún tipo de asociación.

## 8. DISCUSIÓN

La depresión mayor es considerada una enfermedad compleja o multifactorial (12,13), en los últimos años se ha incrementado el interés por encontrar su causa, incluyendo la contribución de la genética y los factores ambientales, es así como el planteamiento de este estudio es encontrar evidencia de asociación de polimorfismos del gen *COMT* y la susceptibilidad a depresión.

La evidencia publicada para otras poblaciones entre polimorfismos de genes y el fenotipo depresión es contradictoria. Se han estudiado genes como: *5HTTP/SLC6A4*, *APOE*, *DRD4*, *GNB3*, *HTR1A*, *MTHFR*, *SLC6A3* y *COMT* (24). Este autor y otros no han identificado un gen único causal y tampoco uno que tenga o representa una contribución mayor, lo que indica que el fenotipo es el resultado de la acción aditiva de varios genes (24).

Debido al interés de estudiar genes relacionados con el metabolismo de medicamentos, esto es Farmacogenética, y la evidencia de que la respuesta a algunos fármacos utilizados en psiquiatría pueden presentar respuesta terapéutica variable ocasionada por las variantes del gen *COMT*, se decidió valorar el papel de este gen en el fenotipo depresión mayor en nuestra población.

En este sentido, tomando en cuenta que algunos estudios apoyan la hipótesis de que el metabolismo de neurotransmisores mediados por el gen *COMT*, pudiera presentar variación enzimática explicada por polimorfismos genéticos (58). No obstante, otros estudios no apoyan tal hipótesis: en Israel en 1999 (59) y en Estados Unidos con población de origen mexicano, catorce años después, en 2012 (12).

En adición, la controversia ha sido ampliada, por una parte hay estudios en los cuales se ha visto una fuerte relación entre polimorfismos del gen *COMT*, como Val158Met, que afectan la respuesta al tratamiento antidepresivo. Estudios adelantados en Italia, Alemania y Japón, junto con otro en población europea

(3,4,60,61), apoyan la relación entre este polimorfismo y la respuesta al tratamiento. Por el contrario, también se encuentran estudios en los que se rechaza la participación de los polimorfismos del gen *COMT* en la respuesta al tratamiento; entre estos se hallan uno realizado en población caucásica de Europa (62), dos estudios en población china (63,65) y otro llamado STAR\*D (*Sequenced Treatment Alternatives to Relieve Depression*) en los Estados Unidos (64). Dado que no se había estudiado este asunto en nuestra población, se decidió abordar el problema en nuestro medio.

Es interesante observar como los cuatro SNPs no sinónimos encontrados en este estudio rs6267, rs138628382, rs4680 y rs199710929 se encuentran ubicados en regiones conservadas al realizar el alineamiento con otras especies, y al ser evaluados estos cambios en PolyPhen y SIFT solo dos rs6267 y rs199710929, podrían llegar a ser deletéreos o generar posible daño en la proteína. Esto deja abierta la posibilidad de realizar futuros análisis funcionales de esta proteína, sin embargo no constituye una conclusión relevante en el presente estudio ya que en los análisis estadísticos no se observó una asociación estadísticamente significativa entre estos SNPs y el fenotipo evaluado.

Los presentes resultados refuerzan el hallazgo de otros estudios frente a las diferencias de género en las enfermedades psiquiátricas, pues para el fenotipo TDM el 82% es del género femenino. En la literatura también se evidencia este hallazgo: por ejemplo, un estudio multicéntrico realizado en 1998 con la participación de 5 países (Inglaterra, Italia, Grecia, Australia y Nigeria) mostró una relación de oportunidades con un riesgo 1.6 veces mayor de depresión para la mujer, comparada con el hombre (1.60; 95% CI, 1.37-1.86) (74).

De acuerdo con los resultados obtenidos, no se ha encontrado en el presente estudio evidencia que soporte la asociación entre los polimorfismos estudiados para el gen *COMT* rs4633, rs740602, rs6227, rs375558228, rs138628382, rs4818, rs4680, rs199710929, rs8192488, rs769224 y rs165631 y el fenotipo de Depresión Mayor; por tanto, se puede afirmar que el gen *COMT*, al menos en la

muestra analizada y posiblemente en nuestra población, no está relacionado con susceptibilidad a depresión. No obstante lo anterior, los presentes resultados pueden requerir validación y por ello se recomienda la ampliación del tamaño de muestra.

En adición, no se puede descartar el papel farmacogenético del gen *COMT* con estos resultados, por lo tanto, queda abierta la posibilidad a nuevos estudios, para medir la influencia de los polimorfismos en la respuesta al tratamiento antidepresivo teniendo en cuenta que en muchos otros estudios ya mencionados se evidencia este papel.

## 9. CONCLUSIONES

En el presente estudio no se encontró asociación entre polimorfismos del gen *COMT* y la susceptibilidad a Depresión Mayor.

A pesar de no hallar evidencia del gen *COMT* y sus variantes, como causantes de Depresión Mayor, no se puede descartar completamente el papel que este gen tiene en los estados de ánimo y con el comportamiento humano.

Es necesario ampliar el estudio para validar los resultados, ampliar el estudio a otros genes causales como *5HTTP/SLC6A4*, *APOE*, *BDNF*, *DRD4*, *GNB3*, *HTR1A*, *MTHFR* y *SLC6A3*, y otros genes candidatos que se identifiquen posteriormente, sobre los cuales hay también evidencia controversial sobre su papel en el fenotipo.

## 10. REFERENCIAS

1. Ministerio de Protección Social C. Estudio Nacional de Salud Mental Colombia 2003. 2003.
2. Rush AJ, Kraemer HC, Sackeim HA, Fava M, Trivedi MH, Frank E, et al. Report by the ACNP Task Force on response and remission in major depressive disorder. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2006 Sep [cited 2014 Apr 14];31(9):1841–53.
3. Arias B, Serretti A, Lorenzi C, Gastó C, Catalán R, Fañanás L. Analysis of COMT gene (Val 158 Met polymorphism) in the clinical response to SSRIs in depressive patients of European origin. *J Affect Disord* [Internet]. 2006 Feb [cited 2014 Apr 15];90(2-3):251–6.
4. Benedetti F, Colombo C, Pirovano A, Marino E, Smeraldi E. The catechol-O-methyltransferase Val(108/158)Met polymorphism affects antidepressant response to paroxetine in a naturalistic setting. *Psychopharmacology (Berl)* [Internet]. 2009 Mar [cited 2014 Apr 15];203(1):155–60.
5. Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet* [Internet]. 2000 Nov 11 [cited 2014 Apr 15];356(9242):1667–71.
6. Mitchell C, Hobcraft J, McLanahan SS, Siegel SR, Berg a., Brooks-Gunn J, et al. Social disadvantage, genetic sensitivity, and children's telomere length. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2014 Apr 7 [cited 2014 Apr 8];1–6.
7. Frances A, Pincus H, First M. DSM-IV Manual diagnóstico y estadístico. 1995.
8. Jim HSL, Small BJ, Minton S, Andrykowski M, Jacobsen PB. History of major depressive disorder prospectively predicts worse quality of life in women with breast cancer. *Ann Behav Med* [Internet]. 2012 Jul [cited 2014 May 31];43(3):402–8.
9. Kupfer DJ, Frank E, Phillips ML. Major depressive disorder: new clinical, neurobiological, and treatment perspectives. 2012;379(9820):1045–55.
10. Hasin DS, Goodwin RD, Stinson FS, Grant BF. Epidemiology of major depressive disorder: results from the National Epidemiologic Survey on Alcoholism and Related Conditions. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2005 Oct [cited 2014 May 30];62(10):1097–106.
11. Kessler RC, Avenevoli S, Ries Merikangas K. Mood disorders in children and adolescents: an epidemiologic perspective. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2001 Jun 15 [cited 2014 Apr 15];49(12):1002–14.

12. Wong M-L, Dong C, Andreev V, Arcos-Burgos M, Licinio J. Prediction of susceptibility to major depression by a model of interactions of multiple functional genetic variants and environmental factors. *Mol Psychiatry* [Internet]. Nature Publishing Group; 2012 Jun [cited 2014 Mar 22];17(6):624–33.
13. Sullivan PF, Neale MC, Ph D, Kendler KS. Reviews and Overviews Genetic Epidemiology of Major Depression : Review and Meta-Analysis. 2000;(October):1552–62.
14. Shelton RC. The molecular neurobiology of depression. *Psychiatr Clin North Am* [Internet]. 2007 Mar [cited 2014 Apr 15];30(1):1–11.
15. Roxburgh S, Macarthur KR. Childhood adversity and adult depression among the incarcerated: Differential exposure and vulnerability by race/ethnicity and gender. *Child Abuse Negl* [Internet]. 2014 May 1 [cited 2014 May 31];
16. Elmasry H, Goodwin RD, Terry MB, Tehranifar P. Early Life Exposure to Cigarette Smoke and Depressive Symptoms Among Women in Midlife. *Nicotine Tob Res* [Internet]. 2014 Apr 28 [cited 2014 May 30];1–9.
17. Sánchez-Villegas A, Verberne L, De Irala J, Ruíz-Canela M, Toledo E, Serra-Majem L, et al. Dietary fat intake and the risk of depression: the SUN Project. *PLoS One* [Internet]. 2011 Jan [cited 2014 May 28];6(1):e16268.
18. Sanchez-Villegas A, Martínez-González MA. Diet, a new target to prevent depression? *BMC Med* [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 May 31];11:3.
19. Colman I, Zeng Y, McMartin SE, Naicker K, Ataullahjan A, Weeks M, et al. Protective factors against depression during the transition from adolescence to adulthood: Findings from a national Canadian cohort. *Prev Med (Baltim)* [Internet]. 2014 May 13 [cited 2014 May 31];65C:28–32.
20. Grosso G, Galvano F, Marventano S, Malaguarnera M, Bucolo C, Drago F, et al. Omega-3 fatty acids and depression: scientific evidence and biological mechanisms. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. Hindawi Publishing Corporation; 2014 Jan [cited 2014 May 30];2014(Figure 1):313570.
21. Wilson AF, Tanna VL, Winokur G, Elston RC, Hill EM. Linkage analysis of depression spectrum disease. *Biol Psychiatry* [Internet]. 1989 Jun [cited 2014 Apr 15];26(2):163–75.
22. Belmaker RH, Agam G. Major depressive disorder. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Jan 3;358(1):55–68.

23. Cullen K, Klimes-Dougan B, Kumra S, Schulz SC. Paediatric major depressive disorder: neurobiology and implications for early intervention. *Early Interv Psychiatry* [Internet]. 2009 Aug [cited 2014 Apr 15];3(3):178–88.
24. Flint J, Kendler KS. The genetics of major depression. *Neuron* [Internet]. Elsevier; 2014 Feb 5 [cited 2014 May 23];81(3):484–503.
25. Numata S, Iga J-I, Nakataki M, Tayoshi S, Tanahashi T, Itakura M, et al. Positive association of the pericentrin (PCNT) gene with major depressive disorder in the Japanese population. *J Psychiatry Neurosci* [Internet]. 2009 May [cited 2014 Apr 15];34(3):195–8.
26. Massat I, Souery D, Del-Favero J, Nothen M, Blackwood D, Muir W, et al. Association between COMT (Val58Met) functional polymorphism and early onset in patients with major depressive disorder in a European multicenter genetic association study. Aksoy Badner, Bellivier, Bellivier, Bertocci, Breslow, Cusin, Egan, Eley, Endicott, Fahndrich, Farmer, Frisch, Geller, Glatt, Grigoriu-Serbanescu, Grigoriu-Serbanescu, Guldberg, Gutierrez, Kelsoe, Kirov, Kunugi, Lachman, Lachman, Lachman, Lahiri, Leboy A, editor. *Mol Psychiatry* [Internet]. Nature Publishing Group; 2005 Jun [cited 2014 Apr 1];10(6):598–605.
27. Carlson C, Papolos D, Pandita RK, Faedda GL, Veit S, Goldberg R, et al. Molecular Analysis of Velo-Cardio-Facial Syndrome Patients with Psychiatric Disorders. 1997;851–9.
28. Hasler G, van der Veen JW, Tumonis T, Meyers N, Shen J, Drevets WC. Reduced prefrontal glutamate/glutamine and gamma-aminobutyric acid levels in major depression determined using proton magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2007 Mar;64(2):193–200.
29. Zarate CA, Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, et al. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2006 Aug [cited 2014 May 31];63(8):856–64.
30. Choudary P V, Molnar M, Evans SJ, Tomita H, Li JZ, Vawter MP, et al. Altered cortical glutamatergic and GABAergic signal transmission with glial involvement in depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2005 Oct 25;102(43):15653–8.
31. Sanacora G, Gueorguieva R, Epperson CN, Wu Y-T, Appel M, Rothman DL, et al. Subtype-specific alterations of gamma-aminobutyric acid and glutamate in patients with major depression. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2004 Jul;61(7):705–13.
32. Rajkowska G, O'Dwyer G, Teleki Z, Stockmeier CA, Miguel-Hidalgo JJ. GABAergic neurons immunoreactive for calcium binding proteins are reduced in the prefrontal cortex in major depression.

- Neuropsychopharmacology [Internet]. 2007 Mar [cited 2014 May 31];32(2):471–82.
33. Lewy AJ, Lefler BJ, Emens JS, Bauer VK. The circadian basis of winter depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2006 May 9;103(19):7414–9.
  34. Lopez-Rodriguez F, Kim J, Poland RE. Total sleep deprivation decreases immobility in the forced-swim test. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2004 Jun [cited 2014 May 30];29(6):1105–11.
  35. Bunney WE, Bunney BG. Molecular clock genes in man and lower animals: possible implications for circadian abnormalities in depression. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2000 Apr;22(4):335–45.
  36. Schmidt PJ, Daly RC, Bloch M, Smith MJ, Danaceau M a, St Clair LS, et al. Dehydroepiandrosterone monotherapy in midlife-onset major and minor depression. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2005 Mar;62(2):154–62.
  37. Torregrossa MM, Jutkiewicz EM, Mosberg HI, Balboni G, Watson SJ, Woods JH. Peptidic delta opioid receptor agonists produce antidepressant-like effects in the forced swim test and regulate BDNF mRNA expression in rats. *Brain Res* [Internet]. 2006 Jan 19 [cited 2014 May 31];1069(1):172–81.
  38. Prossin AR, Love TM, Koeppe R a, Zubieta J-K, Silk KR. Dysregulation of regional endogenous opioid function in borderline personality disorder. *Am J Psychiatry* [Internet]. 2010 Aug;167(8):925–33.
  39. Popik P, Kozela E, Krawczyk M. Nicotine and nicotinic receptor antagonists potentiate the antidepressant-like effects of imipramine and citalopram. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2003 Jul [cited 2014 May 30];139(6):1196–202.
  40. Goshen I, Kreisel T, Ben-Menachem-Zidon O, Licht T, Weidenfeld J, Ben-Hur T, et al. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2008 Jul [cited 2014 May 30];13(7):717–28.
  41. Bauer M, Heinz A, Whybrow PC. Thyroid hormones , serotonin and mood : of synergy and significance in the adult brain. 2002;(March 2001):140–56.
  42. Cooper-Kazaz R, Apter JT, Cohen R, Karagichev L, Muhammed-Moussa S, Grupper D, et al. Combined treatment with sertraline and liothyronine in major depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2007 Jul [cited 2014 May 31];64(6):679–88.

43. Mayberg HS, Lozano AM, Voon V, McNeely HE, Seminowicz D, Hamani C, et al. Deep brain stimulation for treatment-resistant depression. *Neuron* [Internet]. 2005 Mar 3 [cited 2014 May 27];45(5):651–60.
44. Milak MS, Parsey R V, Keilp J, Oquendo M a, Malone KM, Mann JJ. Neuroanatomic correlates of psychopathologic components of major depressive disorder. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 2005 Apr;62(4):397–408.
45. Pizzagalli D a, Oakes TR, Fox a S, Chung MK, Larson CL, Abercrombie HC, et al. Functional but not structural subgenual prefrontal cortex abnormalities in melancholia. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2004 Apr [cited 2014 May 30];9(4):325, 393–405.
46. Risch SC, Nemeroff CB. Neurochemical alterations of serotonergic neuronal systems in depression. *J Clin Psychiatry* [Internet]. 1992 Oct [cited 2014 Apr 15];53 Suppl:3–7.
47. Brandan NC, Llanos IC, Ruiz D, Rodrieguez AN. *Hormonas Catecolamínicas Adrenales*. 2010.
48. Bortolato M, Shih JC. Behavioral outcomes of monoamine oxidase deficiency: preclinical and clinical evidence. *Int Rev Neurobiol* [Internet]. 2011 Jan [cited 2014 May 31];100:13–42.
49. Männistö PT, Kaakkola S. Catechol-O-methyltransferase (COMT): biochemistry, molecular biology, pharmacology, and clinical efficacy of the new selective COMT inhibitors. *Pharmacol Rev* [Internet]. 1999 Dec [cited 2014 Apr 4];51(4):593–628.
50. Lachman HM, Papolos DF, Saito T, Yu YM, Szumlanski CL, Weinshilboum RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. *Pharmacogenetics* [Internet]. 1996 Jun [cited 2014 Apr 3];6(3):243–50.
51. H. P. Rang. *RANG Y DALE, Farmacología*. 2008.
52. Bertram G. Katzung, Susan B. Masters AJT. *Farmacología Básica y Clínica*. 2010.
53. Murray RP, Barnes GE, Ekuma O. Does personality mediate the relation between alcohol consumption and cardiovascular disease morbidity and mortality? *Addict Behav* [Internet]. 2005 Mar [cited 2014 Apr 16];30(3):475–88.
54. Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington H, et al. Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene X environment

- interaction. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2005 May 15 [cited 2014 Mar 20];57(10):1117–27.
55. Huang CS, Chern HD, Chang KJ, Cheng CW, Hsu SM, Shen CY. Breast cancer risk associated with genotype polymorphism of the estrogen-metabolizing genes CYP17, CYP1A1, and COMT: a multigenic study on cancer susceptibility. *Cancer Res* [Internet]. 1999 Oct 1 [cited 2014 Apr 16];59(19):4870–5.
  56. Munafò MR, Bowes L, Clark TG, Flint J. Lack of association of the COMT (Val158/108 Met) gene and schizophrenia: a meta-analysis of case-control studies. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2005 Aug [cited 2014 Apr 16];10(8):765–70.
  57. Opmeer EM, Kortekaas R, van Tol M-J, van der Wee NJ a, Woudstra S, van Buchem M a, et al. Influence of COMT val158met genotype on the depressed brain during emotional processing and working memory. *PLoS One* [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 Mar 19];8(9):e73290.
  58. Ohara K, Nagai M, Suzuki Y. Low activity allele of catechol-o-methyltransferase gene and Japanese unipolar depression. *Neuroreport* [Internet]. 1998 May 11 [cited 2014 May 31];9(7):1305–8.
  59. Frisch a, Postilnick D, Rockah R, Michaelovsky E, Postilnick S, Birman E, et al. Association of unipolar major depressive disorder with genes of the serotonergic and dopaminergic pathways. *Mol Psychiatry* [Internet]. 1999 Jul;4(4):389–92.
  60. Szegedi a, Rujescu D, Tadic a, Müller MJ, Kohnen R, Stassen HH, et al. The catechol-O-methyltransferase Val108/158Met polymorphism affects short-term treatment response to mirtazapine, but not to paroxetine in major depression. *Pharmacogenomics J* [Internet]. 2005 Jan [cited 2014 Mar 21];5(1):49–53.
  61. Yoshida K, Higuchi H, Takahashi H, Kamata M, Sato K, Inoue K, et al. Influence of the tyrosine hydroxylase val81met polymorphism and catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on the antidepressant effect of milnacipran. *Hum Psychopharmacol* [Internet]. 2008 Mar [cited 2014 Apr 16];23(2):121–8.
  62. Kocabas NA, Faghel C, Barreto M, Kasper S, Linotte S, Mendlewicz J, et al. The impact of catechol-O-methyltransferase SNPs and haplotypes on treatment response phenotypes in major depressive disorder: a case-control association study. *Int Clin Psychopharmacol* [Internet]. 2010 Jul [cited 2014 Apr 15];25(4):218–27.
  63. Xu Z, Zhang Z, Shi Y, Pu M, Yuan Y, Zhang X, et al. Influence and interaction of genetic polymorphisms in catecholamine neurotransmitter systems and early life stress on antidepressant drug response. *J Affect*

- Disord [Internet]. Elsevier B.V.; 2011 Sep [cited 2014 Apr 15];133(1-2):165–73.
64. Sinyor M, Schaffer A, Levitt A. The sequenced treatment alternatives to relieve depression (STAR\*D) trial: a review. *Can J Psychiatry* [Internet]. 2010 Mar [cited 2014 Apr 16];55(3):126–35.
  65. Tsai S-J, Gau Y-TA, Hong C-J, Liou Y-J, Yu YW-Y, Chen T-J. Sexually dimorphic effect of catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on clinical response to fluoxetine in major depressive patients. *J Affect Disord* [Internet]. 2009 Feb [cited 2014 Apr 16];113(1-2):183–7.
  66. Miller S, Dykes D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. 1988;16(3):55404.
  67. NanoDrop 2000 / 2000c Spectrophotometer. 2000;
  68. Weaver B, Wuensch KL. SPSS and SAS programs for comparing Pearson correlations and OLS regression coefficients. *Behav Res Methods* [Internet]. 2013 Sep [cited 2014 Mar 22];45(3):880–95.
  69. Solé X, Guinó E, Valls J, Iñiesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* [Internet]. 2006 Aug 1 [cited 2014 Apr 15];22(15):1928–9.
  70. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2007 Sep [cited 2014 Mar 24];81(3):559–75.
  71. Barrett JC. Haploview: Visualization and analysis of SNP genotype data. *Cold Spring Harb Protoc* [Internet]. 2009 Oct [cited 2014 Apr 15];2009(10):pdb.ip71.
  72. Ministerio de Salud C. Resolucion 8430 de 1993. 1993;1993:1–12.
  73. Flicek P, Amode MR, Barrell D, Beal K, Billis K, Brent S, et al. Ensembl 2014. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2014 Jan [cited 2014 May 28];42(Database issue):D749–55.
  74. Gater R, Tansella M, Korten A, Tiemens BG, Mavreas VG, Olatawura MO. Sex differences in the prevalence and detection of depressive and anxiety disorders in general health care settings: report from the World Health Organization Collaborative Study on Psychological Problems in General Health Care. *Arch Gen Psychiatry* [Internet]. 1998 May [cited 2014 May 31];55(5):405–13.

## 11. AGRADECIMIENTOS

*A Dios porque su presencia en mi vida hace todo posible*

*A mi esposo por todo su inmenso amor incondicional y constante apoyo*

*A mi mami por quien soy todo lo que soy y es mi ejemplo a seguir de perseverancia y valentía*

*A mi papi por su compañía y por todas sus oraciones*

*A toda mi familia por todo su cariño y fe en mí*

*A mis amigos por todo el ánimo durante este tiempo*

*A la Universidad del Rosario por permitirme estudiar, trabajar y creer en mí*

*A mis profesores porque además de enseñarme Genética Humana me enseñaron que cumplir un sueño requiere esfuerzo y dedicación.*

*A Juan Sebastián por su sonrisa y por ser el sol de mi vida...*

## 12. ANEXOS

### ANEXO 1. Formato de Consentimiento Informado Casos



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO  
ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### EL PAPEL DE POLIMORFISMOS DEL GEN *COMT* EN LA SUSCEPTIBILIDAD A LA DEPRESIÓN MAYOR

Usted está invitado a participar en un estudio de investigación propuesto por el Departamento de Ciencias Básicas, la Unidad de Genética, la Unidad de Farmacología y el Centro de Investigación en Ciencias de la Salud de la Universidad del Rosario con la participación de:

**Dora Janeth Fonseca, Isabel Perez, Heidi Mateus, Carlos Restrepo, Marcela Gálvez, Laura Rico**

Es muy importante que usted lea y entienda ciertos puntos importantes en la realización de este estudio:

- (a) La participación en este estudio es totalmente voluntaria.
- (b) La naturaleza de esta investigación, su propósito, sus limitaciones, sus riesgos, sus inconvenientes, incomodidades y cualquier información pertinente al resultado de este, le será explicada por el equipo de investigación.
- (c) Tiene la libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio sin que por ello se creen perjuicios para continuar su cuidado y tratamiento por parte de su médico tratante
- (d) Si tiene algún interrogante sobre el estudio por favor no dude en manifestarlo a alguno de los investigadores, quien con mucho gusto, le contestará sus preguntas.
- (e) **Confidencialidad:** Los registros médicos de cada individuo permanecerán archivados en el Laboratorio de Genética de la Universidad del Rosario. Las historias clínicas, los resultados de exámenes y la información que usted nos ha dado son de carácter

absolutamente confidencial, de manera que, solamente usted y el equipo de atención clínica y de investigación tendrá acceso a estos datos. Por ningún motivo se divulgará esta información sin su consentimiento.

- (f) De acuerdo con lo establecido en la resolución 008430 de 1993 (“Normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud”), este estudio puede ser clasificado como una “Investigación con riesgo mínimo”. Se cumplirá con lo establecido por el Ministerio de Protección Social colombiano (antiguo Ministerio de Salud), la ley 84 de 1989 y la ley 2381 de 1993
- (g) El participante del estudio no recibirá ningún tipo de remuneración ni tendrán que pagar por su participación en el estudio.
- (h) El psiquiatra tratante de la Institución Prestadora de Servicios de Salud a la cual usted se encuentra adscrito manejará y continuará manejando el tratamiento de su enfermedad y será quien decida si es necesario hacer cambios en su medicación, en la dosis o en el fármaco antidepresivo con el objeto de seleccionar el tratamiento más apropiado, según su evolución clínica en cada consulta de control.

Cualquier información adicional usted puede obtenerla directamente con:  
ISABEL PÉREZ-OLMOS, DORA FONSECA  
Departamento de Ciencias Básicas.  
Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud  
Universidad del Rosario. Tel (57-1) 3474570 (Ext 266 o 338 o 214)

Dr. ALBERTO VELEZ VAN MEERBEKE  
Presidente del comité de Ética en Investigación.  
Universidad del Rosario. Tel (57-1) 3474570 (Ext. 249)

## **A. EXPLICACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

### **OBJETIVO:**

El objetivo principal de este estudio es determinar si existe una relación entre el polimorfismo genético del gen Catecol-O-Metiltransferasa *COMT*, con la susceptibilidad al trastorno depresivo mayor que usted presenta, esto solo se conocerá al finalizar la investigación para garantizar la validez del estudio.

### **PROCEDIMIENTO:**

En la evaluación inicial, se le harán preguntas a usted que indagan por algunos síntomas que se presentan en las personas con depresión, similar a lo que el médico tratante hace en la consulta psiquiátrica inicial o de control.

Al inicio de su participación en esta investigación se le tomará una única muestra de aproximadamente 10 ML (menos de una cucharada) de sangre mediante punción en vena periférica del antebrazo. Esta toma de la muestra no se repetirá a lo largo del estudio a menos que sea necesaria una segunda extracción por daño de la muestra obtenida, de ser así, usted será notificado para tomar la muestra nuevamente.

Estas muestras serán manejadas y analizadas únicamente por personas expertas involucradas directamente en este proyecto y serán almacenadas en nuestro laboratorio de Genética.

### **RIESGOS E INCOMODIDADES:**

La participación en este estudio representa un riesgo mínimo para su salud e integridad y las molestias y efectos adversos estarán representadas exclusivamente por la toma de muestra referida en los procedimientos, algunas molestias por la toma de la muestra de sangre pueden ser: hematomas, enrojecimiento y/o sensibilidad al tacto en el lugar de donde se extrae la muestra, sin embargo, estas serán transitorias.

#### **BENEFICIOS ADICIONALES:**

Este estudio ayudará a guiar el diagnóstico del Trastorno Depresivo Mayor.

#### **RESPONSABILIDAD DEL PACIENTE Y PRECAUCIONES:**

Al tomar parte de este estudio es importante que usted contemple las siguientes responsabilidades y precauciones a tener en cuenta:

Usted se encuentra con la responsabilidad de brindar información verdadera sobre sus síntomas depresivos.

El riesgo existente en una toma de muestra de sangre en vena periférica es muy bajo y por lo tanto no reviste riesgo en la salud del paciente, ustedes pueden informar acerca de las molestias causadas por la toma de la muestra de sangre hasta que estas desaparezcan como es usual.

#### **MANEJO DE RESULTADOS:**

Sólo al final de esta investigación y para preservar la validez de la misma, cuando haya una solicitud expresa del paciente se le dará a conocer el resultado de su genotipo para *COMT*, de manera personal en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Universidad del Rosario.

### ***B. AUTORIZACION***

La utilización de la muestra en estudios posteriores nos podría ayudar en el futuro a entender mejor la relación entre la genética y la respuesta al tratamiento con medicamentos antidepresivos. Por lo tanto, por favor marque su decisión con respecto al almacenamiento de la muestra y su utilización en estudios de investigación posteriores

**Deseo que la muestra que me fue extraída sea DESECHADA una vez completado el estudio.**

**Autorizo conservar la muestra que me fue extraída con la posibilidad de emplearla junto con el resultado del estudio, en las situaciones señaladas a continuación:**

- En estudios de investigación en colaboración con otras instituciones nacionales y/o internacionales, siempre y cuando exista acuerdo interinstitucional previo, aprobación del comité de ética y se conserve en anonimato mis datos de identificación Si No
- En estudios complementarios de diagnóstico para mí o algún miembro de mi familia Si No

- En estudios de investigación específicos para la(s) entidad(es), objeto de esta toma de muestra, siempre y cuando se conserve en anonimato mis datos de identificación Si No
- En estudios de investigación de entidades distintas a la(s) entidad(es) objeto de esta toma de muestra, siempre y cuando se conserve en anonimato mis datos de identificación Si No

**AUTORIZACION PARA LA TOMA DE MUESTRAS E INCLUSION VOLUNTARIA EN EL ESTUDIO:**

Habiendo sido enterado(a) del contenido del presente estudio, se que los resultados me indicaran a mí acerca de la característica del gen *COMT*, y como ésta podría determinar la susceptibilidad a presentar Trastorno Depresivo Mayor, lo cual podría ayudar a optimizar el tratamiento en el futuro, y una vez resueltas todas mis dudas acerca de la investigación; Yo, \_\_\_\_\_ con documento de identificación número: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_, acepto voluntariamente que se me tome una muestra de sangre, con el fin de realizar los análisis y evaluaciones mencionadas. Así mismo, declaro que se me ha explicado la presencia de los riesgos y el manejo que se le dará al material de muestra suministrada.

Fecha: \_\_\_\_\_

Firma \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_

Teléfono \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_  
CC

Testigo 1

Firma: \_\_\_\_\_  
CC

Testigo 2

Investigador (nombre y firma) \_\_\_\_\_

## ANEXO 2. Formato de Consentimiento Informado Controles



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO  
ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

### EL PAPEL DE POLIMORFISMOS DEL GEN *COMT* EN LA SUSCEPTIBILIDAD A LA DEPRESIÓN MAYOR

Usted está invitado a participar en un estudio de investigación propuesto por el Departamento de Ciencias Básicas, la Unidad de Genética, la Unidad de Farmacología y el Centro de Investigación en Ciencias de la Salud de la Universidad del Rosario con la participación de:

**Dora Janeth Fonseca, Isabel Perez, Heidi Mateus, Carlos Restrepo,  
Marcela Gálvez, Laura Rico**

Es muy importante que usted lea y entienda ciertos puntos importantes en la realización de este estudio:

- (i) La participación en este estudio es totalmente voluntaria.
- (j) La naturaleza de esta investigación, su propósito, sus limitaciones, sus riesgos, sus inconvenientes, incomodidades y cualquier información pertinente al resultado de este, le será explicada por el equipo de investigación.
- (k) Tiene la libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio sin que por ello se creen perjuicios ni repercusiones.
- (l) Si tiene algún interrogante sobre el estudio por favor no dude en manifestarlo a alguno de los investigadores, quien con mucho gusto, le contestará sus preguntas.
- (m) **Confidencialidad:** Los registros médicos de cada individuo permanecerán archivados en el Laboratorio de Genética de la Universidad del Rosario. Las historias clínicas, los resultados de exámenes y la información que usted nos ha dado son de carácter absolutamente confidencial, de manera que, solamente usted y el equipo de atención clínica y de investigación tendrá acceso a estos datos. Por ningún motivo se divulgará esta información sin su consentimiento.
- (n) De acuerdo con lo establecido en la resolución 008430 de 1993 ("Normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud"), este estudio puede ser clasificado como una "Investigación con riesgo mínimo". Se cumplirá con lo establecido por el Ministerio de Protección Social colombiano (antiguo Ministerio de Salud), la ley 84 de 1989 y la ley 2381 de 1993

- (o) El participante del estudio no recibirá ningún tipo de remuneración ni tendrán que pagar por su participación en el estudio.
- (p) Si usted se encuentra en manejo por psiquiatría, el psiquiatra tratante de la Institución Prestadora de Servicios de Salud a la cual usted se encuentra adscrito manejará y continuará manejando el tratamiento de su enfermedad y será quien decida si es necesario hacer cambios en su medicación, en la dosis o en el fármaco antidepresivo con el objeto de seleccionar el tratamiento más apropiado, según su evolución clínica en cada consulta de control.

Cualquier información adicional usted puede obtenerla directamente con:

ISABEL PÉREZ-OLMOS, DORA FONSECA

Departamento de Ciencias Básicas.

Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud

Universidad del Rosario. Tel (57-1) 3474570 (Ext 266 o 338 o 214)

Dr. ALBERTO VELEZ VAN MEERBEKE

Presidente del comité de Ética en Investigación.

Universidad del Rosario. Tel (57-1) 3474570 (Ext. 249)

## **A. EXPLICACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

### **OBJETIVO:**

El objetivo principal de este estudio es determinar si existe una relación entre el polimorfismo genético del gen Catecol-O-Metiltransferasa *COMT*, con la susceptibilidad al trastorno depresivo mayor, esto solo se conocerá al finalizar la investigación para garantizar la validez del estudio.

### **PROCEDIMIENTO:**

En la evaluación inicial, se le harán preguntas a usted que indagan por algunos síntomas que se presentan en las personas con depresión.

Al inicio de su participación en esta investigación se le tomará una única muestra de aproximadamente 10 ML (menos de una cucharada) de sangre mediante punción en vena periférica del antebrazo. Esta toma de la muestra no se repetirá a lo largo del estudio a menos que sea necesaria una segunda extracción por daño de la muestra obtenida, de ser así, usted será notificado para tomar la muestra nuevamente.

Estas muestras serán manejadas y analizadas únicamente por personas expertas involucradas directamente en este proyecto y serán almacenadas en nuestro laboratorio de Genética.

### **RIESGOS E INCOMODIDADES:**

La participación en este estudio representa un riesgo mínimo para su salud e integridad y las molestias y efectos adversos estarán representadas exclusivamente por la toma de muestra referida en los procedimientos, algunas molestias por la toma de la muestra de sangre pueden ser: hematomas, enrojecimiento y/o sensibilidad al tacto en el lugar de donde se extrae la muestra, sin embargo, estas serán transitorias.

### **BENEFICIOS ADICIONALES:**

Este estudio ayudará a guiar el diagnóstico del Trastorno Depresivo Mayor.

### **RESPONSABILIDAD DEL PACIENTE Y PRECAUCIONES:**

Al tomar parte de este estudio es importante que usted contemple las siguientes responsabilidades y precauciones a tener en cuenta:

Usted se encuentra con la responsabilidad de brindar información verdadera sobre sus síntomas.

El riesgo existente en una toma de muestra de sangre en vena periférica es muy bajo y por lo tanto no reviste riesgo en la salud del paciente, ustedes pueden informar acerca de las molestias causadas por la toma de la muestra de sangre hasta que estas desaparezcan como es usual.

### **MANEJO DE RESULTADOS:**

Sólo al final de esta investigación y para preservar la validez de la misma, cuando haya una solicitud expresa del participante se le dará a conocer el resultado de su genotipo para *COMT*, de manera personal en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la Universidad del Rosario.

### **B. AUTORIZACION**

La utilización de la muestra en estudios posteriores nos podría ayudar en el futuro a entender mejor la relación entre la genética y otras enfermedades. Por lo tanto, por favor marque su decisión con respecto al almacenamiento de la muestra y su utilización en estudios de investigación posteriores

**Deseo que la muestra que me fue extraída sea DESECHADA una vez completado el estudio.**

**Autorizo conservar la muestra que me fue extraída con la posibilidad de emplearla junto con el resultado del estudio, en las situaciones señaladas a continuación:**

- En estudios de investigación en colaboración con otras instituciones nacionales y/o internacionales, siempre y cuando exista acuerdo interinstitucional previo, aprobación del comité de ética y se conserve en anonimato mis datos de identificación Si No
- En estudios complementarios de diagnóstico para mí o algún miembro de mi familia Si No
- En estudios de investigación específicos para la(s) entidad(es), objeto de esta toma de muestra, siempre y cuando se conserve en anonimato mis datos de identificación Si No
- En estudios de investigación de entidades distintas a la(s) entidad(es) objeto de esta toma de muestra, siempre y cuando se conserve en anonimato mis datos de identificación Si No

### **AUTORIZACION PARA LA TOMA DE MUESTRAS E INCLUSION VOLUNTARIA EN EL ESTUDIO:**

Habiendo sido enterado(a) del contenido del presente estudio, se que los resultados me indicaran a mí acerca de la característica del gen *COMT*, y

como ésta podría determinar la susceptibilidad a presentar Trastorno Depresivo Mayor, lo cual podría ayudar a optimizar el tratamiento en el futuro, y una vez resueltas todas mis dudas acerca de la investigación; Yo, \_\_\_\_\_ con documento de identificación número: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_, acepto voluntariamente que se me tome una muestra de sangre, con el fin de realizar los análisis y evaluaciones mencionadas. Así mismo, declaro que se me ha explicado la presencia de los riesgos y el manejo que se le dará al material de muestra suministrada.

Fecha: \_\_\_\_\_

Firma \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_

Teléfono \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_  
CC

Testigo 1

Firma: \_\_\_\_\_  
CC

Testigo 2

Investigador (nombre y firma) \_\_\_\_\_

### ANEXO 3. Formato de Recolección de Datos



--

## RECOLECCIÓN DE DATOS

### EL PAPEL DE POLIMORFISMOS DEL GEN *COMT* EN LA SUSCEPTIBILIDAD A LA DEPRESIÓN MAYOR

Código paciente \_\_\_\_\_

CC/TI \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_

Fecha de nacimiento

DD/MM/AAAA \_\_\_\_\_

Investigador-

Psiquiatra \_\_\_\_\_

Institución \_\_\_\_\_

Historia clínica \_\_\_\_\_

Fecha de entrevista DD/MM/AAAA \_\_\_\_\_

Teléfono: Fijo 1: \_\_\_\_\_ Fijo 2: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_

Dirección Residencia/trabajo: \_\_\_\_\_

#### INFORMACIÓN GENERAL

##### 1. Estado civil

Soltero (a)

Casado(a)

Separado(a)

Unión libre

Viudo(a)

Otro

2. Edad en años cumplidos: \_\_\_\_\_

3. Peso en kilogramos: \_\_\_\_\_

4. Talla en cm: \_\_\_\_\_

##### 5. Sexo

<input type="checkbox"/>	Masculino
<input type="checkbox"/>	Femenino

##### 6. Estrato socioeconómico

1	<input type="checkbox"/>
2	<input type="checkbox"/>
3	<input type="checkbox"/>
4	<input type="checkbox"/>

5	
6	

**7. Máximo nivel educativo alcanzado**

Primaria       Bachillerato       Técnico   
Profesional       Posgrado

**8. Consume sustancias psicoactivas**

Si	No
----	----

Sustancia: \_\_\_\_\_

**9. Fumador**

Si	No
----	----

9.1 Cantidad de cigarrillos al día \_\_\_\_\_

**10. Consumo de alcohol**

11. Frecuencia del consumo de 

Si	No
----	----

 alcohol

Menos de una vez al mes       Una vez al mes   
Una vez a la semana       Todos  días

**12. Hospitalizaciones en unidad de psiquiatría**

Si	No
----	----

**13. Tratamiento recibido anteriormente con medicamentos antidepresivos**

13.1. Medicamento: \_\_\_\_\_

13.2 Dosis y Frecuencia de toma: \_\_\_\_\_

13.3 Duración del tratamiento: \_\_\_\_\_

13.4 Finalización del 

Si	No
----	----

 tratamiento:

13.5 Razón de la suspensión:

Efecto adverso       No disponibilidad del tratamiento

Otro: \_\_\_\_\_

**14. Uso de otro medicamento antidepresivo**

Si	No
----	----

14.1. Medicamento: \_\_\_\_\_

14.2 Dosis y frecuencia de toma: \_\_\_\_\_

14.3 Duración del tratamiento: \_\_\_\_\_

14.4 Finalización del 

Si	No
----	----

 tratamiento:

14.5 Razón del cambio:

Efecto adverso       No disponibilidad del tratamiento

Otro: \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES**

Patológicos	
-------------	--

<b>Tóxico-alérgicos</b>	
<b>Hospitalizaciones</b>	
<b>Traumáticos</b>	
<b>Farmacológicos</b>	
<b>Familiares</b>	

## **ANEXO 4. MINI Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional**

**MINI Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional  
(MINI International Neuropsychiatric Interview, MINI)**