



Identificación de predictores farmacogenéticos en la respuesta terapéutica a Fluoxetina en niños y adolescentes

Ana Blázquez Hinojosa

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



Programa de doctorado de Medicina

Línea de investigación:

Bases biológicas del trastorno psíquico i psiquiatría nuclear

**Identificación de predictores farmacogenéticos en la respuesta terapéutica a
Fluoxetina en niños y adolescentes**

Tesis presentada por:

Ana Blázquez Hinojosa

Para optar al grado de Doctora por la Universidad de Barcelona

Directora de Tesis:

Dra. María Luisa Lázaro García
Profesora Agregada Interina
Departamento de Psiquiatría y
Psicobiología Clínica
Universidad de Barcelona

Co-directora:

Dra. Patricia Gassó Astorga
Profesora lectora
Departamento de Anatomía
Patológica, Farmacología y
Microbiología
Universidad de Barcelona

Barcelona, Abril 2015

Lista de abreviaturas

TDM: Trastorno depresivo mayor

TOC: Trastorno obsesivo compulsivo

TAG: Trastorno de ansiedad generalizada

ISRS: Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina

FLX: Fluoxetina

NORFLX: Norfluoxetina

FDA: Food and Drug Administration

EMA: Agencia Europea del Medicamento

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

CYP: Citocromo

UM: Metabolizadores ultrarápidos

EM: Metabolizadores rápidos

IM: Metabolizadores intermedios

PM: Metabolizadores lentos

CDI: Inventario de depresión infantil

OCI/CV: Inventario de sintomatología obsesivo-compulsiva infantil

CYBOCS: Versión infantil de la escala Yale Brown de obsesiones y compulsiones

SCARED: Screen for child Anxiety related Emotional disorders

CGI: Escala de impresión clínica global

EEAG/CGAS: Escala de evaluación de la actividad global

UKU: Udvalg for Kliniske Undersogelser

TADS: Treatment for adolescents with depression study

| ÍNDICE | Páginas |
|--|--------------|
| AGRADECIMIENTOS | 9 |
| PREFACIO | 11-12 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 13 |
| 1.1- El trastorno depresivo mayor en la infancia y la adolescencia | 15 |
| 1.1-1. <i>Características clínicas</i> | 15-16 |
| 1.1-2. <i>Curso clínico y pronóstico</i> | 16 |
| 1.1-3. <i>Tratamiento</i> | 17 |
| 1.1-3.1. <i>Tratamiento fase aguda</i> | 17 |
| 1.1-3.2. <i>Tratamiento fase de continuación y mantenimiento</i> | 18 |
| 1.2- El trastorno obsesivo compulsivo en la infancia y la adolescencia | 19 |
| 1.2-1. <i>Características clínicas</i> | 19-20 |
| 1.2-2. <i>Curso clínico y pronóstico</i> | 19 |
| 1.2-3. <i>Tratamiento</i> | 19 |
| 1.3- El trastorno de ansiedad generalizada en la infancia y la adolescencia | 21 |
| 1.3-1. <i>Características clínicas</i> | 21-22 |
| 1.3-2. <i>Curso clínico y pronóstico</i> | 21 |
| 1.3-3. <i>Tratamiento</i> | 21-22 |
| 1.4- Farmacogenética | 23 |
| 1.4-1. <i>Generalidades</i> | 23-24 |
| 1.4-2. <i>Farmacocinética</i> | 24 |
| 1.4-2.1. <i>CYP2D6</i> | 24 |
| 1.4-2.1.1. <i>Locus del CYP2D6</i> | 24 |
| 1.4-2.1.2. <i>Polimorfismos genéticos e impacto actividad enzimática</i> | 24-26 |
| 1.4-2.2. <i>CYP2C9</i> | 26 |
| 1.4-2.2.1. <i>Locus del CYP2C9</i> | 26 |
| 1.4-2.2.2. <i>Polimorfismos genéticos e impacto actividad enzimática</i> | 26 |
| 1.4-2.3. <i>Glicoproteína-P</i> | 27 |
| 1.4-2.3.1. <i>Locus del gen ABCB1(MDR1)</i> | 27 |
| 1.4-2.3.2. <i>Polimorfismos genéticos e impacto actividad enzimática</i> | 27 |
| 1.4-3. <i>Fluoxetina</i> | 27 |
| 1.4-3.1. <i>Farmacología básica</i> | 27 |
| 1.4-3.2. <i>Propiedades farmacocinéticas</i> | 28-29 |
| 1.4-3.3. <i>CYP2D6 y Fluoxetina</i> | 29 |
| 1.4-3.4. <i>CYP2C9 y Fluoxetina</i> | 29-30 |

| | |
|---|--------------|
| 1.4-3.5. ABCB1 y Fluoxetina | 30 |
| 1.4-3.6. Concentraciones plasmáticas de FLX y mejoría clínica | 30 |
| 1.4-3.6.1. Estudios en población adulta | 31 |
| 1.4-3.6.2. Estudios en población infantil y juvenil | 31 |
| 1.5- PDF de la Revisión | 32-42 |
| | |
| 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS | 43 |
| 2.1- Hipótesis | 45 |
| 2.2- Objetivos | 46 |
| 2.2-1. Principales | 46 |
| 2.2-2. Secundarios | 46 |
| | |
| 3. METODOLOGÍA | 47 |
| 3.1- Participantes | 49-50 |
| 3.1-1. Estudio I | 50- 51 |
| 3.1-2. Estudio II | 51 |
| 3.1-3. Estudio III | 51-52 |
| 3.2- Evaluaciones | 52 |
| 3.2-1. Escalas para medir respuesta clínica y efectos secundarios al tratamiento | 52-53 |
| 3.2-2. Consideraciones especiales estudios I, II y III | 53-54 |
| 3.3- Obtención de niveles plasmáticos y genotipado | 54-55 |
| 3.4- Análisis estadístico | 55 |
| 3.4-1. Estudio I | 55 |
| 3.4-2. Estudio II | 55 |
| 3.4-3. Estudio III | 55-56 |
| 3.5- Aspectos éticos | 56 |
| | |
| 4. RESULTADOS | 57 |
| 4.1- Estudio I: “Concentraciones plasmáticas de fluoxetina y mejoría clínica en una muestra de pacientes adolescentes diagnosticados de trastorno depresivo mayor, trastorno obsesivo compulsivo o trastorno de ansiedad generalizada” | 59 |
| 4.1-1. Dosis, niveles plasmáticos de FLX, y su relación con variables demográficas y clínicas | 59-60 |
| 4.1-2. Relación entre la mejoría clínica, dosis y concentraciones plasmáticas | 61-62 |
| 4.1-3. Relación entre los efectos secundarios y las concentraciones plasmáticas | 63 |
| 4.1-4. PDF del artículo 1 | 63-72 |
| 4.2- Estudio II: “Efecto de los genotipos CYP2D6, CYP2C9 y ABCB1 en las concentraciones plasmáticas de fluoxetina y relación con mejoría clínica en niños y adolescentes” | 73 |

| | | |
|-------------|---|----------------|
| 4.2-1. | Genotipos | 73-74 |
| 4.2-2. | Concentraciones plasmáticas de FLX y NORFLX | 74-76 |
| 4.2-3. | Concentraciones plasmáticas y relación con los genotipos CYP2D6, CYP2C9, ABCB1 | 74-76 |
| 4.2-4. | CYP2D6, CYP2C9, ABCB1 y mejoría clínica | 74-75 |
| 4.2-5. | PDF del artículo 2 | 77-82 |
| 4.3- | Estudio III: "Seguimiento a 1 año de adolescentes diagnosticados de un episodio depresivo mayor: relación entre las variables clínicas y los genotipos CYP2D6, CYP2C9 y ABCB1" | 83 |
| 4.3-1. | Tasas de remisión y recuperación de un episodio depresivo mayor en una cohorte de pacientes tratados con FLX un mínimo de 12 semanas | 83 |
| 4.3-2. | Remisión, recuperación y los genotipos CYP2D6, CYP2C9, ABCB1 | 84 |
| 4.3-3. | PDF del artículo 3 (en revisión) | 85-109 |
| 5. | DISCUSIÓN | 111-120 |
| 5.1- | Limitaciones | 120-121 |
| 6. | CONCLUSIONES | 123-126 |
| 7. | IMPLICACIONES CLÍNICAS Y DIRECCIONES FUTURAS | 127-130 |
| 8. | BIBLIOGRAFÍA | 131-143 |
| 9. | ANEXOS | 145 |
| 9.1- | Inventario de depresión CDI | 146-147 |
| 9.2- | Inventario síntomas obsesivo-compulsivos OCI/CV | 148 |
| 9.3- | Versión infantil escala Yale-Brown | 149-153 |
| 9.4- | SCARED padres e hijos | 154-155 |
| 9.5- | Escala de evaluación gravedad enfermedad (CGI) | 156 |
| 9.6- | CGAS/EEAG | 157-158 |
| 9.7- | UKU efectos secundarios | 159 |

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer a la Dra. Lázaro la oportunidad de trabajar como becaria con ella, después de haber realizado mi rotación externa en la sala de hospitalización del Servicio de Psiquiatría Infantil y Juvenil del Hospital Clínico Universitario, junto a la Dra. Morer a quien también le agradezco su apoyo incondicional durante esos meses. Sin la Dra. Lázaro, nada del resto habría sido posible.

Agradecer también al Dr. Moyá que me contratará después en otro proyecto, para poder así prolongar mi estancia en este hospital.

A mis directoras de tesis: la Dra. Lázaro y la Dra. Gassó, gracias por confiar en mí, por todos los consejos que me habéis dado y por el apoyo mostrado en cada uno de los proyectos que hemos emprendido.

A la Fundación Alicia Koplowitz que con sus ayudas a la investigación ha financiado el presente proyecto y mi contrato en la Fundación Clínic per a la Recerca Biomèdica.

A todos los pacientes y familias que generosamente han colaborado en los estudios.

A todos los compañeros de este hospital y de otros sitios en los que he estado y en especial a las “nenas”: Ana N, Ana O, Elena e Itziar con las que hemos compartido risas, cafés, tristezas y alegrías. A mis amigas más especiales: Patri, Vero, Eva, Carla, Nuria, Cris E., Cris M., Uli y principalmente a Marga, gracias por estar ahí siempre que os necesito.

A mi familia, por la dedicación, por el apoyo incondicional, por inculcarme la importancia del esfuerzo y de no rendirse cuando algo no sale bien a la primera. A mi abuelo, a quien le hubiera hecho mucha ilusión estar en un día como hoy.

A mis príncipes, Jhon y Thiago, a los que adoro, y a quien les dedico esta tesis.

PREFACIO

La presente tesis, presentada para obtener el grado de Doctora por la Universidad de Barcelona es el resultado de tres estudios llevados a cabo en el Servicio de Psiquiatría y Psicología Infantil y Juvenil del Instituto de Neurociencias, del Hospital Clínic de Barcelona, en colaboración con el Departamento de Farmacología, Microbiología y Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universitat de Barcelona.

Los tres estudios originales parten de una revisión bibliográfica sobre la farmacogenética implicada en la **farmacocinética y farmacodinamia de fluoxetina** llevada a cabo de junio a diciembre de 2011 y que fue aceptada para publicación en junio de 2012. Algunos aspectos de esta revisión se comentarán en el apartado de introducción de la presente tesis (el PDF se incluye al final de la introducción; páginas 32-42):

Revisión: *“Fluoxetine pharmacogenetics in child and adult populations”*. Blázquez A, Mas S, Plana MT, Lafuente A, Lázaro L. Eur Child Adolesc Psychiatry 2012; 21(11): 599-610. FI: 3,554. Q1: PSYCHIATRY. Décil 1: Pediatrics.

Los tres estudios fueron realizados durante el período 2011-2014, mientras estuve contratada por la Fundación Clínic para la Investigación Biomédica. Los estudios forman parte del proyecto de investigación **“Identificación de predictores farmacogenéticos en la respuesta terapéutica a Fluoxetina en niños y adolescentes”** cuya investigadora principal es la Dra. Luisa Lázaro. Proyectos: DN040521 y PI10/01965.

Los primeros dos estudios han sido publicados en revistas internacionales indexadas con factor de impacto, mientras que el tercero se halla en proceso de revisión:

Artículo 1: *“Plasma fluoxetine concentrations and clinical improvement in an adolescent sample diagnosed with major depressive disorder, obsessive-compulsive disorder, or generalized anxiety disorder”*. Blázquez A, Mas S, Plana MT, Gassó P, Méndez I, Torra M, Arnaiz JA, Lafuente A, Lázaro L. J Clin Psychopharmacol 2014; 34(3):318-26. FI: 3,761. Q1: PHARMACOLOGY & PHARMACY. PSYCHIATRY.

1.INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Entre un 10-20% de los niños y adolescentes tienen problemas de salud mental que interfieren en su desarrollo normal y en las actividades de la vida cotidiana. Algunos problemas de salud mental son leves, mientras que otros son más graves y necesitan una atención especializada [1]. Alrededor del 2-5% de la población infantil y juvenil es diagnosticada de trastorno depresivo mayor (TDM) durante esta etapa evolutiva [2]. Aproximadamente un 1-3% serán diagnosticados de trastorno obsesivo compulsivo (TOC), siendo más prevalentes otros trastornos, como los trastornos de ansiedad (8,3-27%) y particularmente el trastorno de ansiedad generalizada (TAG), que afecta aproximadamente al 3% de la población infantil y juvenil [3].

1.1-El TDM en la infancia y la adolescencia

1.1.1- Características clínicas

El TDM se engloba dentro de los trastornos del ánimo o afectivos. Se caracteriza por un período de 2 semanas de ánimo bajo, junto con irritabilidad persistente y generalizada, anhedonia, alteraciones del sueño y del apetito, ideas recurrentes de muerte y de suicidio, disminución en la concentración y sentimientos de culpa, que interfieren en las relaciones académicas e interpersonales del menor [4]. A diferencia del adulto, la depresión infantil tiene un modo de presentación polimorfo, siendo la irritabilidad un síntoma característico de la depresión [5]. En las etapas prepuberales, la prevalencia del trastorno depresivo mayor es similar entre niños y niñas. Sin embargo, entre adolescentes, la prevalencia es mayor para el sexo femenino con una razón 2:1, debido posiblemente a la diferente forma de afrontar el estrés o a los cambios hormonales que se producen durante la pubertad [6]. EL TDM puede asociarse con otros trastornos como el abuso de sustancias, y además de con conducta suicida [8,9]. El diagnóstico se establece de forma clínica y dado que los trabajos se iniciaron antes del 2013, fecha de la publicación del DSM-5, se basará en los criterios diagnósticos del DSM-IV-TR (tabla 1) [10].

Tabla 1. Criterios diagnósticos

| Criterios diagnósticos de episodio depresivo mayor según DSM-IV-TR |
|--|
| <p>A. Cinco o más de los síntomas siguientes durante un período de dos semanas y que representen un cambio respecto a la actividad previa: uno de los síntomas debe ser (1) estado de ánimo depresivo o (2) pérdida de interés o placer.</p> <p>1 Estado de ánimo depresivo la mayor parte del día, casi todos los días, indicado por el relato subjetivo o por observación de otros.</p> <p>2 Marcada disminución del interés o del placer en todas, o casi todas, las actividades durante la mayor parte del día, casi todos los días.</p> <p>3 Pérdida significativa de peso sin estar a dieta o aumento significativo, o disminución o aumento del apetito casi todos los días.</p> <p>4 Insomnio o hipersomnia casi todos los días.</p> <p>5 Agitación o retraso psicomotores casi todos los días.</p> <p>6 Fatiga o pérdida de energía casi todos los días.</p> <p>7 Sentimientos de desvalorización o de culpa excesiva o inapropiada (que pueden ser delirantes) casi todos los días (no simplemente auto reproches o culpa por estar enfermo).</p> <p>8 Menor capacidad de pensar o concentrarse, o indecisión casi todos los días (indicada por el relato subjetivo o por observación de otros).</p> <p>9 Pensamientos recurrentes de muerte (no solo temor de morir), ideación suicida recurrente sin plan específico o un intento de suicidio o un plan de suicidio específico.</p> |
| B. los síntomas no cumplen los criterios de un episodio mixto |
| C. los síntomas provocan malestar clínicamente significativo o deterioro del funcionamiento social, laboral o en otras esferas importantes. |
| D. los síntomas no obedecen a los efectos fisiológicos directos de una sustancia (por ejemplo, una droga de abuso, una medicación), ni a una enfermedad médica general (por ejemplo, hipotiroidismo). |
| E. los síntomas no son mejor explicados por duelo, es decir que tras la pérdida de un ser querido, los síntomas persisten por más de 2 meses o se caracterizan por visible deterioro funcional, preocupación mórbida con desvalorización, ideación suicida, síntomas psicóticos o retraso psicomotor. |

1.1.2- Curso clínico y pronóstico

Los estudios longitudinales realizados en muestras clínicas y en la comunidad sugieren que entre un 60-90% de los episodios depresivos en adolescentes remiten al año y sólo un 10% sufre recaídas durante el siguiente año [11-13]. Sin embargo, estudios de seguimiento muestran que entre un 30-70% de los adolescentes pueden sufrir una o varias recaídas a lo largo de la adolescencia y la edad adulta [14, 15]. Las recurrencias son más frecuentes entre los 6-12 meses tras la remisión del trastorno [15]. Su inicio en la adolescencia incrementa el riesgo de recurrencia y de dificultades psicosociales en la edad adulta, siendo importante detectarla y tratarla en los primeros episodios [13, 16, 17].

1.1.3- Tratamiento

El tratamiento de la depresión en el niño y el adolescente debería ser integral, y abarcar todas aquellas intervenciones psicoterapéuticas, farmacológicas y/o psicosociales que puedan mejorar su bienestar y capacidad funcional. Debería incluir psicoeducación, apoyo individual y familiar, técnicas de resolución de problemas, coordinación con otros profesionales, atención a otras comorbilidades y monitorización regular del estado mental. En el caso de que sea un episodio depresivo leve sin factores de riesgo asociados puede ser suficiente para el tratamiento la observación y la psicoeducación. Si en 2 semanas los síntomas no remiten o se añaden factores de riesgo, conductas autolesivas o comorbilidad, debe derivarse a salud mental e iniciar tratamiento psicológico (terapia cognitivo-conductual, terapia familiar o terapia interpersonal) durante 8 a 12 semanas. Con carácter general, no se recomienda utilizar fármacos antidepresivos en el tratamiento inicial de los niños y adolescentes con depresión leve. Respecto a los episodios moderados y graves, se debe derivar a los recursos de salud mental para iniciar tratamiento psicológico. En los casos en que el tratamiento psicológico no es efectivo se recomienda añadir tratamiento farmacológico [18, 19]. Los fármacos de primera elección son los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) [20-22]. Actualmente la fluoxetina (FLX) es uno de los ISRS aprobados por la Food and Drug Administration (FDA), para niños mayores de 8 años, mientras que es el único ISRS aprobado por la Agencia Europea del Medicamento (EMA), como tratamiento del TDM (moderado a severo) en niños a partir de 8 años, en los que el tratamiento psicológico no ha sido eficaz [23]. El tratamiento del episodio depresivo se divide en 3 fases: aguda, de continuación y de mantenimiento.

1.1.3.1- Fase aguda

La fase aguda (8-12 semanas), se refiere a la fase inicial del tratamiento, en la que se pretende disminuir los síntomas depresivos y conseguir la remisión del cuadro [15]. Estudios previos muestran que los antidepresivos son efectivos en esta fase [24, 25] y que además pueden reducir el riesgo de recaída depresiva [10, 26].

1.1.3.2- Fase de continuación y mantenimiento

La fase de continuación del tratamiento (4-9 meses) tiene como objetivo prevenir recaídas y consolidar la mejoría de síntomas a largo plazo. Por último, la fase de mantenimiento (1-3 años) tiene como objetivo prevenir recaídas y recurrencias [27]. Dado que la duración de un episodio depresivo oscila entre los 7 y los 9 meses, se recomienda mantener el tratamiento antidepresivo de 6 a 9 meses tras la remisión del episodio, aunque la realidad es que no hay un tiempo exacto establecido [10]. Existen pocos estudios sobre el mantenimiento a largo plazo del tratamiento antidepresivo. En algunos estudios se ha demostrado que los pacientes a los que se les mantiene el tratamiento con FLX de 6 a 12 meses tras la remisión, recaen menos que aquellos tratados con placebo [10, 27]. A pesar de ello sigue habiendo un porcentaje de pacientes que no responden al tratamiento.

1.2-El trastorno obsesivo compulsivo en la infancia y la adolescencia

1.2.1- Características clínicas

El trastorno obsesivo compulsivo (TOC) afecta aproximadamente al 1-3% de los niños y/o adolescentes [28, 29]. Se define por la presencia de pensamientos intrusivos no deseados, imágenes y/o impulsos (obsesiones) y conductas repetitivas o actos mentales (compulsiones), que se presentan de forma persistente [30]. La presentación en el niño se asocia a riesgo de otros trastornos psiquiátricos en la edad adulta [31]. Respecto a la prevalencia por sexos, en el adulto la prevalencia es 1:1, mientras que en muestras pediátricas es más frecuente en el sexo masculino [32]. El diagnóstico se establece de forma clínica y basándose en los criterios del DSM-IV-TR [9] (tabla 2).

1.2.2- Curso clínico y pronóstico

El debut en la infancia suele asociarse a persistencia en la edad adulta. Entre un 30-50% de los adultos con TOC refieren que sus síntomas se iniciaron antes de los 18 años de edad [33]. En estudios previos de seguimiento se ha visto que aproximadamente en un 60%, los síntomas remiten en la edad adulta. En los pacientes en que los síntomas persisten, solo son moderados-severos en una tercera parte de estos [34, 35].

1.2.3- Tratamiento

En la elección del plan terapéutico deberá tenerse en cuenta la comorbilidad y los factores psicosociales estresantes. Es importante así mismo realizar psicoeducación del trastorno y valorar como interfieren los síntomas en la vida diaria del paciente. Los tratamientos basados en la evidencia en el TOC son la terapia cognitivo-conductual incorporando la exposición con prevención de respuesta (de 12-20 sesiones, de frecuencia semanal) y los ISRS [36]. El tratamiento de primera línea se considera la intervención psicoterapéutica, dejándose la medicación para los casos moderados en los que esta no es efectiva. Entre los ISRS, la FLX ha resultado ser un tratamiento eficaz, mejorando los síntomas TOC [37]. Según la FDA, la FLX es un tratamiento eficaz en TOC entre los 7 y los 17 años de edad. Otros ISRS autorizados por la FDA y la AEMPS en niños y adolescentes con TOC son la fluvoxamina y la sertralina [38]. Se recomienda mantener el tratamiento con ISRS 6 meses después de la remisión de los síntomas [39].

Tabla 2. Criterios diagnósticos

| Criterios diagnósticos trastorno obsesivo compulsivo según DSM-IV-TR |
|--|
| <p>A. Se cumple para las obsesiones y las compulsiones:</p> <p>Las obsesiones se definen por 1, 2, 3 y 4:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 Pensamientos, impulsos o imágenes recurrentes y persistentes que se experimentan en algún momento del trastorno como intrusos e inapropiados, y causan ansiedad o malestar significativos 2 Los pensamientos, impulsos o imágenes no se reducen a simples preocupaciones excesivas sobre problemas de la vida real 3 La persona intenta ignorar o suprimir estos pensamientos, impulsos o imágenes, o bien intenta neutralizarlos mediante otros pensamientos o actos 4 La persona reconoce que estos pensamientos, impulsos o imágenes obsesivos son el producto de su mente (y no vienen impuestos como en la inserción del pensamiento) <p>Las compulsiones se definen por 1 y 2:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 Comportamientos (p. ej., lavado de manos, puesta en orden de objetos, comprobaciones) o actos mentales (p. ej., rezar, contar o repetir palabras en silencio) de carácter repetitivo, que el individuo se ve obligado a realizar en respuesta a una obsesión o con arreglo a ciertas reglas que debe seguir estrictamente 2 El objetivo de estos comportamientos u operaciones mentales es la prevención o reducción del malestar o la prevención de algún acontecimiento o situación negativos; sin embargo, estos comportamientos u operaciones mentales o bien no están conectados de forma realista con aquello que pretenden neutralizar o prevenir o bien resultan claramente excesivo |
| <p>B. En algún momento del curso del trastorno la persona ha reconocido que estas obsesiones o compulsiones resultan excesivas o irracionales. Nota: Este punto no es aplicable en los niños.</p> |
| <p>C. Las obsesiones o compulsiones provocan un malestar clínico significativo, representan una pérdida de tiempo (suponen más de 1 hora al día) o interfieren marcadamente con la rutina diaria del individuo, sus relaciones laborales (o académicas) o su vida social.</p> |
| <p>D. Si hay otro trastorno, el contenido de las obsesiones o compulsiones no se limita a él (p. ej., preocupaciones por la comida en un trastorno alimentario, arranque de cabellos en la tricotilomanía, inquietud por la propia apariencia en el trastorno dismórfico corporal, preocupación por las drogas en un trastorno por consumo de sustancias, preocupación por estar padeciendo una grave enfermedad en la hipocondría, preocupación por las necesidades o fantasías sexuales en una parafilia o sentimientos repetitivos de culpabilidad en el trastorno depresivo mayor).</p> |
| <p>E. El trastorno no se debe a los efectos fisiológicos directos de una sustancia (p. ej., drogas, fármacos) o de una enfermedad médica.</p> <p><i>Especificar si: con poca conciencia de enfermedad:</i> si, durante la mayor parte del tiempo del episodio actual, el individuo no reconoce que las obsesiones o compulsiones son excesivas o irracionales.</p> |

1.3-El trastorno de ansiedad generalizada en la infancia y la adolescencia

1.3.1- Características clínicas

El trastorno de ansiedad generalizada (TAG) se engloba dentro de los trastornos de ansiedad. Se define como una preocupación excesiva y crónica, que afecta a diferentes áreas (familiar, social, escolar). Los pacientes presentan inquietud sobre hechos o acciones del pasado, del presente o del futuro. Necesitan asegurarse de que hacen todo bien y preguntan continuamente a familiares, profesores y amigos sobre su funcionamiento [3]. La prevalencia estimada en población infanto-juvenil es del 15% [40]. En general, la ansiedad es más frecuente en niñas que en niños, con una edad de aparición alrededor de los 8,5 años de edad, si bien, los síntomas son parecidos en ambos sexos [41]. Es frecuente la asociación del TAG con otros trastornos como el trastorno por ansiedad de separación o el trastorno depresivo mayor [42]. El diagnóstico se establece de forma clínica, basándose en los criterios del DSM-IV-TR (tabla 3) [9].

1.3.2- Curso clínico y pronóstico

Los trastornos de ansiedad que debutan en la infancia tienden a tener un curso fluctuante, pero crónico y pueden evolucionar a otros trastornos de ansiedad o trastornos afectivos durante la etapa adulta [43]. También tienen más riesgo de otros trastornos comórbidos como abuso de cannabis o alcohol [44]. El realizar un tratamiento apropiado durante la niñez puede ayudar a reducir tanto los síntomas como su severidad y además prevenir psicopatología más severa en la edad adulta [3, 45].

1.3.3- Tratamiento

En el plan de tratamiento se debe tener en cuenta la gravedad, el tiempo de evolución, así como la edad del paciente y el desarrollo cognitivo. La psicoterapia es el tratamiento de primera elección, siendo la terapia cognitivo-conductual la que ha demostrado más eficacia en población infantil y juvenil [46]. La terapia cognitivo-conductual proporciona al paciente estrategias de afrontamiento adaptativas y tiene cinco componentes básicos: psicoeducación para padres y niños, entrenamiento en habilidades de relajación, reestructuración cognitiva, métodos de exposición y prevención de recaídas [46].

Para los casos graves, en los que sólo remiten parcialmente los síntomas o se asocia comorbilidad, puede ser útil combinar la psicoterapia con ISRS [47]. En el momento actual, ningún medicamento tiene la indicación aprobada por la AEMPS para el tratamiento del TAG, aunque las guías NICE sí recomiendan los ISRS como primera elección. En la literatura encontramos un estudio en que se concluyó que la FLX puede ser útil y bien tolerada en niños y adolescentes a partir de los 7 años para el tratamiento agudo del TAG [48].

Tabla 3. Criterios diagnósticos

| Criterios diagnósticos trastorno ansiedad generalizada según DSM-IV-TR |
|--|
| A. Ansiedad y preocupación excesivas (expectación aprensiva) sobre una amplia gama de acontecimientos o actividades (como el rendimiento laboral o escolar), que se prolongan más de 6 meses. |
| B. Al individuo le resulta difícil controlar este estado de constante preocupación. |
| C. La ansiedad y preocupación se asocian a tres (o más) de los seis síntomas siguientes (algunos de los cuales han persistido más de 6 meses). Nota: En los niños sólo se requiere uno de estos síntomas: <ol style="list-style-type: none"> 1. inquietud o impaciencia 2. fatigabilidad fácil 3. dificultad para concentrarse o tener la mente en blanco 4. irritabilidad 5. tensión muscular 6. alteraciones del sueño (dificultad para conciliar o mantener el sueño, o sensación al despertarse de sueño no reparador) |
| D. El centro de la ansiedad y de la preocupación no se limita a los síntomas de un trastorno; por ejemplo, la ansiedad o preocupación no hacen referencia a la posibilidad de presentar una crisis de angustia (como en el trastorno de angustia), pasarlo mal en público (como en la fobia social), contraer una enfermedad (como en el trastorno obsesivo-compulsivo), estar lejos de casa o de los seres queridos (como en el trastorno de ansiedad por separación), engordar (como en la anorexia nerviosa), tener quejas de múltiples síntomas físicos (como en el trastorno de somatización) o padecer una enfermedad grave (como en la hipocondría), y la ansiedad y la preocupación no aparecen exclusivamente en el transcurso de un trastorno por estrés postraumático. |
| E. La ansiedad, la preocupación o los síntomas físicos provocan malestar clínicamente significativo o deterioro social, laboral o de otras áreas importantes de la actividad del individuo. |
| F. Estas alteraciones no se deben a los efectos fisiológicos directos de una sustancia (p. ej., drogas, fármacos) o a una enfermedad médica (p. ej., hipertiroidismo) y no aparecen exclusivamente en el transcurso de un trastorno del estado de ánimo, un trastorno psicótico o un trastorno generalizado del desarrollo. |

Nota: El TDM, el TOC o el TAG son trastornos prevalentes que comportan disfunción a nivel familiar, social y académico y en algunos casos si no se tratan de forma precoz tienden a persistir en la etapa adulta. En trastornos moderados y severos puede ser necesario añadir a la psicoterapia un ISRS (por ejemplo FLX).

1.4-Farmacogenética

1.4.1- Generalidades

A pesar de que el tratamiento farmacológico con ISRS es útil en TDM, TOC y/o TAG, nos encontramos con que un 30-40% de los pacientes no responden en la forma esperada [3, 48-51]. Además, en el caso del TDM un 40% de los pacientes suelen sufrir recaídas. Diversos factores como la baja tolerancia y los efectos adversos influyen en la respuesta al tratamiento, contribuyendo a la baja adherencia y al abandono del mismo [52]. Además, cada vez existe más evidencia de que en la respuesta al tratamiento en el TDM, TOC o el TAG los factores genéticos juegan un papel importante [53,54].

La farmacogenética estudia el efecto de la variabilidad genética de un individuo en su respuesta a determinados fármacos. La variabilidad en la respuesta de los pacientes a un determinado medicamento se debe en parte a la presencia de polimorfismos genéticos, que provocan cambios en la secuencia de ADN, lo que puede dar lugar a la aparición en la población de diferentes fenotipos [54]. Uno de los polimorfismos más característicos es la sustitución de una sola base, que es lo que se conoce como SNP (Single Nucleotide Polymorphism) [55, 56]. Muchos de los estudios farmacogenéticos se han centrado en investigar los genes relacionados con la farmacocinética, especialmente con los implicados en el metabolismo [52, 57]. En psiquiatría este tipo de estudios se centran principalmente en las isoformas del citocromo P450, un enzima a través del cual se metabolizan la mayoría de los antidepresivos [58], especialmente en el CYP2D6, y en menor medida el CYP2C9, CYP2C19 y CYP3A4 [57-59]. Además, recientemente también ha adquirido importancia el papel de la glicoproteína-P, ya que actúa como transportador de determinados antidepresivos a nivel, entre otros, de la barrera hematoencefálica [60]

La farmacogenética se centra, además de en la farmacocinética, en la farmacodinamia también involucrada en la respuesta farmacológica. La farmacodinamia estudia la acción del fármaco en el organismo, que al interactuar con otras moléculas (receptores, enzimas,

transportadores) produce una respuesta farmacológica [52, 61]. A nivel farmacodinámico los antidepresivos interactúan con el sistema serotoninérgico, proponiéndose como dianas farmacogenéticas, el gen que codifica para el transportador de serotonina (*5-HTT*) o los implicados en la síntesis de este neurotransmisor (*TPH1*, *TPH2*), entre otros [61].

Nota: Como principales proteínas implicadas en la farmacocinética de los antidepresivos encontramos el CYP2D6, el CYP2C9 y la glicoproteína-P

1.4.2- Farmacocinética

Las proteínas que actúan en el metabolismo o transporte de los antidepresivos están implicadas en respuesta farmacológica. Las diferencias de actividad de los diferentes citocromos podrían jugar un papel en la gran variabilidad interindividual en cuanto a concentraciones plasmáticas de fármaco y aparición de efectos adversos [59, 62].

1.4.2.1- CYP2D6

1.4.2.1.1- Locus del gen CYP2D6

El gen debrisoquina hidroxilasa o *CYP2D6* se localiza en el cromosoma 22, en la posición 22q13.1 y codifica para el enzima CYP2D6 que consta de 497 aminoácidos. Este gen pertenece a un clúster de pseudogenes inactivos alineados en tanda, que incluyen el *CYP2D8P* y el *CYP2D7P* [63].

1.1.4.1.2- Polimorfismos genéticos del CYP2D6 e impacto en la actividad enzimática

En la actualidad se han identificado unas 100 variables alélicas del *CYP2D6*, aunque se prevé que se descubran variantes nuevas (<http://www.imm.ki.se/CYPalleles>). Estos alelos determinan actividades metabólicas variables (desde nula a una actividad enzimática incrementada), lo que fenotípicamente se traduce en la existencia de individuos metabolizadores ultrarrápidos (UM), rápidos (EM), intermedios (IM) y lentos (PM) [64-66]. Los PM metabolizarán de forma lenta los fármacos, manteniéndose incrementadas las concentraciones plasmáticas y por lo tanto teniendo más riesgo de sufrir efectos secundarios. En cambio, los UM metabolizarán muy rápidamente el fármaco, siendo el principal problema

de éstos que a dosis estándar no respondan al tratamiento y sea necesario incrementar la dosis de fármaco [67, 68].

El descubrimiento de los polimorfismos del gen *CYP2D6* tuvo lugar cuando un individuo, al tomar una dosis de prueba de debrisoquina (un fármaco bloqueador adrenérgico usado para el tratamiento de la hipertensión), sufrió un colapso con hipotensión vascular. Los estudios en este individuo demostraron que los efectos observados se debían a una metabolización lenta de la debrisoquina causada por un polimorfismo en el gen *CYP2D6* que producía una enzima defectuosa en la hidroxilación.

Así, se ha demostrado que existe una gran variación inter-individual en la respuesta hipotensora a este fármaco, así como una mayor sensibilidad a los efectos antihipertensivos de la debrisoquina como consecuencia del metabolismo lento. Estudios posteriores han demostrado que los individuos que metabolizaban más lentamente tienen cantidades disminuidas de este citocromo [69].

Los alelos que determinan actividades metabólicas distintas, se distribuyen de forma variable en función de la etnia. En la tabla 4 se resumen los porcentajes de cada fenotipo metabolizador, determinado por del número de alelos funcionales, en población caucásica [52, 58, 70].

Tabla 4. Fenotipos *CYP2D6* en Caucásicos [71]

| Fenotipo | Porcentaje (%) | Número de alelos funcionales | Alelos |
|----------|----------------|---|---------------------------------------|
| UM | 3-5 | más de 2 alelos funcionales | *1x2N |
| EM | 70-80 | 2 alelos funcionales | *1 |
| IM | 10-17 | 1 alelo funcional y 1 alelo no funcional o con función reducida; 2 alelos con función reducida; 1 alelo no funcional y 1 alelo con función reducida | *10*14*17*18*36 *41*47*49*50*51*57 |
| PM | 5-10 | 2 alelos no funcionales | *3*4*5*6 |

La frecuencia del fenotipo PM varía en los diferentes grupos étnicos. Es muy frecuente en británicos y suizos (8,9% y 10% respectivamente), mientras que en asiáticos ser metabolizador lento es muy poco común (0,1-2%). Respecto a los metabolizadores ultrarrápidos (UM), el porcentaje es alto en la población etíope (16%) y en arabia saudí (20%) [65, 70].

En el momento actual no existe evidencia de diferencias fenotípicas entre adultos y niños, es decir, en población infantil también nos encontraríamos con un porcentaje parecido

de PM, IM, EM y UM. Antiguamente existía la creencia de que en los niños estaba aumentado el metabolismo para todos los fármacos, en comparación con los adultos. Hoy en día se sabe que esto depende del tipo de enzima. En el caso del *CYP2D6* y el *CYP2C19*, sus capacidades metabólicas estarían disminuidas al nacer, representando aproximadamente un 50-70% respecto a los niveles de los adultos. Hacia los 2-3 años se alcanzarían los valores normales del adulto [72].

1.4.2.2- CYP2C9

1.1.4.2.1- Locus del CYP2C9

El gen humano que codifica para la proteína CYP2C9 ha sido localizado en el cromosoma 10, en la posición 10q24.2. En la región génica donde se localiza también encontramos los genes que codifican para las proteínas CYP2C8, 2C18 and 2C19 [73]. La proteína CYP2C9 está compuesta por 490 aminoácidos y se expresa fundamentalmente en hígado [74].

1.1.4.2.2- Polimorfismos genéticos del CYP2C9 e impacto en la actividad enzimática

El gen *CYP2C9* es polimórfico. En la actualidad se conocen unas 50 variantes alélicas (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c9.htm>). El *CYP2C9*1* se conoce como la variante de tipo salvaje. Las variables alélicas más comunes son el *CYP2C9*2* y el *CYP2C9*3* [73, 75-76]. Las frecuencias de las variantes alélicas del gen *CYP2C9* difieren entre las poblaciones. En caucásicos el porcentaje de portadores del *CYP2C9*2* es relativamente frecuente y varía entre el 8-12%, mientras que los portadores del *CYP2C9*3* varían entre el 3-8%, siendo lo más frecuente ser portador del alelo *CYP2C9*1* [58, 73, 75]. En población asiática y africana los porcentajes de *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3* son todavía menores. Entre las distintas combinaciones, lo más frecuente en caucásicos parece ser homocigoto para el **1/*1*, siendo lo menos frecuente la combinación **3/*3*, que se asociaría clínicamente a alteraciones farmacocinéticas. Los portadores del alelo **3* tendrían la actividad enzimática muy reducida (5% respecto al **1*), mientras que los portadores del alelo **2* tendrían una actividad intermedia (12% respecto al alelo 1) [58, 73, 75].

La actividad del *CYP2C9* se encontraría incrementada al nacimiento, asemejándose a la de los adultos hacia la pubertad [77].

1.4.2.3- Glicoproteína-P

1.4.2.3.1- Locus del gen *ABCB1* (*MDR1*)

La glicoproteína-P es una proteína transportadora de fármacos (entre ellos los antidepresivos) presente en las paredes del intestino y en la barrera hematoencefálica, que actúa como una bomba-ATP dependiente extrayendo de las células xebióticos y limitando la absorción de determinadas sustancias [78, 79]. Este transportador, codifica para el gen *ABCB1*, que se localiza en el cromosoma 7, en la posición 7q21.1 [80].

1.4.2.3.2- Polimorfismos genéticos del *ABCB1* e impacto en la actividad enzimática

Existen diversas variantes de este gen. Los dos polimorfismos más estudiados han sido el G2677T o rs203258 y el C3435T o rs1045642 [70, 81-83]. Se ha postulado que estos polimorfismos pueden alterar la actividad y/o la expresión de la gliocoproteína-P. Además se han asociado a diferencias en la respuesta al tratamiento de determinados fármacos, entre ellos los antidepresivos [84].

1.4.3- Fluoxetina

1.4.3.1-Farmacología básica

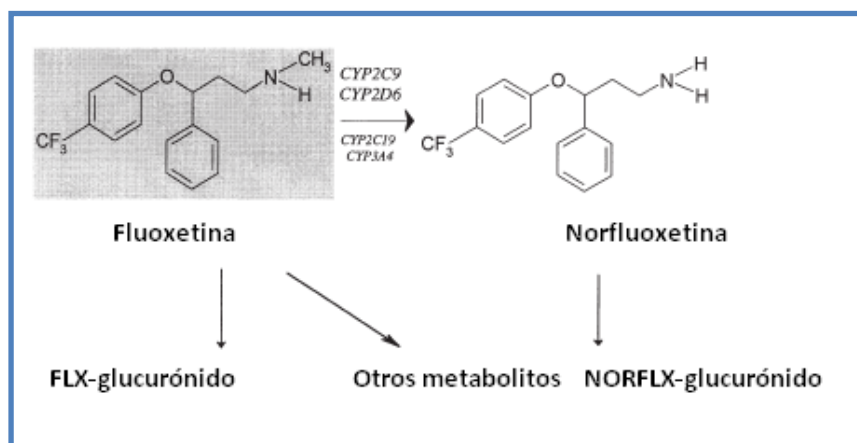
La fluoxetina (FLX) es una mezcla racémica de 2 enantiómeros (S y R). El enantiómero S es equipotente al enantiómero R en la inhibición de la recaptación de serotonina [85]. El metabolito activo de la FLX, llamado norfluoxetina (NORFLX), es fruto de la desmetilación hepática y da lugar a dos enantiómeros de distinta potencia (S y R-NORFLX). El enantiómero S de la NORFLX es 20 veces más potente en la inhibición de la recaptación de serotonina que el R [86, 87]. Las concentraciones en el estado de equilibrio (*steady state*) de la FLX y la NORFLX se alcanzan a las 2-4 semanas. La FLX tiene un carbono asimétrico, y por lo tanto, existen dos enantiómeros que difieren en su farmacocinética y actividad. La S-FLX parece tener mayor duración del efecto antidepresivo en comparación con el racémico [88].

1.4.3.2-Propiedades farmacocinéticas

La FLX se administra por vía oral y se absorbe muy bien en el tracto digestivo. Debido al metabolismo hepático de primer paso, la biodisponibilidad oral es del 90% [89]. Hacia los 5 años de edad la biodisponibilidad (pH gástrico, vaciado gástrico y metabolismo intestinal) es similar a la de los adultos [77, 90]. La FLX es lipofílica por lo que tiene un gran volumen de distribución y de acumulación tisular (principalmente a nivel pulmonar [89]). En la infancia, la distribución a los 3-5 años de edad se asemeja a la del adulto [77, 90]. Respecto a la excreción, es básicamente renal [87] y tiene una vida media larga (2-4 días). En el caso de la NORFLX la vida media está entre los 7-15 días [85, 91]. Las vidas medias prolongadas tienen varias consecuencias a considerar en la práctica clínica. Debido a las vidas medias prolongadas, los cambios de dosis no se reflejarán totalmente en las concentraciones plasmáticas hasta más de cuatro semanas después, hecho que afecta tanto a la optimización de la dosis como a la suspensión del tratamiento [92]. La FLX tiene una cinética no lineal y las dosis mayores de FLX resultan en concentraciones plasmáticas desproporcionadamente altas [87]. A pesar de que las concentraciones plasmáticas no se han relacionado con los efectos adversos ni con la mejoría clínica, la determinación de las concentraciones plasmáticas de FLX puede ser útil para evaluar la variabilidad en la respuesta clínica [86, 87].

La FLX se metaboliza extensamente en el hígado en NORFLUX y en varios otros metabolitos no identificados (figura 1). El único metabolito activo identificado, la NORFLX, se forma de la N-desmetilación de la FLX, como ya hemos comentado anteriormente [87]. Posteriormente ambos productos se conjugan con el ácido glucurónico y se excretan por vía renal.

Figura 1. Metabolismo de la FLX



Del total de fármaco recuperado en orina (un 60% de la dosis administrada después de treinta y cinco días) un 2,5% corresponde a FLX inalterada, un 5,2% a FLX-glucurónido, un 10% a NORFLX y un 9,5% a NORFLX-glucurónido. No se han identificado el 72,8% restante de productos excretados [93].

Numerosos estudios indican que el citocromo P450 (y en particular el isoenzima CYP2D6) está involucrado en la N-desmetilación de FLX en NORFLX [94]. Otros enzimas como el CYP2C9 o el CYP2C19 también influyen en este paso [58, 62]. Se ha sugerido, que la gran variabilidad interindividual en concentraciones plasmáticas de FLX podría deberse a diferencias en la actividad de estos enzimas [58, 62].

1.4.3.3- CYP2D6 y Fluoxetina

El CYP2D6 está implicado como ya hemos comentado anteriormente, en el metabolismo oxidativo de distintos fármacos, entre ellos la FLX. En los pacientes, las concentraciones plasmáticas de FLX y NORFLX pueden variar en función de los distintos polimorfismos genéticos del *CYP2D6* [95, 96].

En estudios previos llevados a cabo con FLX en población adulta, se ha visto que la ratio FLX/NORFLX correlaciona con los distintos polimorfismos del *CYP2D6* y que la concentración de FLX está influenciada por el número de genes activos del *CYP2D6* en condiciones de estado de equilibrio [68, 75]. En otro estudio, se observó que los polimorfismos del *CYP2D6* podrían contribuir en la variabilidad interindividual en la farmacocinética de la FLX [58]. No existen estudios previos en población infanto-juvenil.

1.4.3.4- CYP2C9 y Fluoxetina

El *CYP2C9* actúa como catalizador en el metabolismo de diversos antidepresivos, y está implicado en la N-desmetilación hepática de la FLX [97, 98]. En un estudio realizado con FLX en el que para evitar sesgos sólo se estudió la actividad CYP2C9 en pacientes con 2 genes activos del *CYP2D6*, se observó que las concentraciones plasmáticas de FLX corregidas por eran más elevadas en pacientes portadores de las combinaciones $*1/*2$ y $*1/*3$ que en los portadores de $*1/*1$ [99].

Estos datos se confirmaron en otro estudio realizado con FLX, donde también para evitar sesgos se escogieron a los homocigotos EM del *CYP2D6*. Los investigadores observaron que a misma dosis de FLX, las concentraciones de R- FLX eran menores en los homocigotos del *CYP2C9*1* que en el resto de pacientes [58]. Este mismo estudio refirió también que los pacientes portadores de *CYP2C9*3* tenían concentraciones sanguíneas más elevadas de R- FLX, S- FLX y R + S FLX que el resto de fenotipos, concluyéndose que el alelo *3 sería el de menor actividad. No existen estudios previos en población infanto-juvenil sobre *CYP2C9* y fluoxetina.

1.4.3.5- ABCB1 y Fluoxetina

En la literatura encontramos 2 estudios en los que se evalúa el efecto de los polimorfismos del *ABCB1* y la respuesta a FLX. En el primero, llevado a cabo en 117 pacientes con un episodio depresivo mayor tratados con diversos antidepresivos (entre ellos FLX), no se pudo encontrar una relación entre el polimorfismo C3435T y la eficacia al tratamiento antidepresivo, evaluada mediante la escala CGI-I y la escala Hamilton para depresión [100]. Sin embargo, en el segundo, realizado en una muestra de 272 pacientes que presentaban también un episodio depresivo mayor y que estaban tratados con FLX, si se encontró asociación significativa entre el gen *ABCB1* y la respuesta antidepresiva [101]. También se ha sugerido que la dosis de antidepresivo que se requiere para la remisión podría predecirse por el polimorfismo C3435T [102].

Nota: Existe una gran variabilidad inter-individual entre las concentraciones plasmáticas y la respuesta farmacológica a FLX.

1.4.3.6- Concentraciones plasmáticas de FLX y mejoría clínica

A pesar de que no existe una clara relación entre concentración plasmática y mejoría clínica, su determinación podría aportarnos información sobre la variabilidad en la respuesta clínica [103].

1.4.3.6.1-Estudios en población adulta

Si bien existe cierta discrepancia en la literatura, algunos estudios realizados en población adulta no han podido establecer una correlación entre concentraciones plasmáticas de la mezcla racémica FLX + NORFLX y la respuesta clínica y/o la aparición de efectos adversos al tratamiento [103-105]. No obstante, en un estudio, sí se ha encontrado relación entre la dosis oral de FLX y las concentraciones plasmáticas de FLX [106].

1.4.3.6.1-Estudios en población infantil y juvenil

En población infanto-juvenil son escasos los estudios sobre concentraciones plasmáticas de FLX [107]. En el estudio de Wilens y col. (2002) [107] se concluyó que las concentraciones máximas de FLX en sangre eran 2 veces mayores en niños que en adolescentes y 1,7 veces mayores en el caso de la NORFLX, además de que existía gran variabilidad interindividual en cuanto a mejoría clínica (como ocurre también en los adultos). Cuando se normalizó por peso corporal no se hallaron diferencias de concentraciones entre niños y adolescentes. A raíz de este estudio se recomendó iniciar el tratamiento con una dosis de 10mg/día en niños y 20mg/día en adolescentes [107, 108]. De todas formas, dos estudios previos no encontraron relación entre concentración plasmática de FLX y respuesta clínica y efectos secundarios al tratamiento [109, 110].

1.5-PDF de la revisión

Eur Child Adolesc Psychiatry
DOI 10.1007/s00787-012-0305-6

REVIEW

Fluoxetine pharmacogenetics in child and adult populations

Ana Blázquez · Sergi Mas · Ma Teresa Plana ·
Amàlia Lafuente · Luisa Lázaro

Received: 1 December 2011 / Accepted: 24 June 2012
© Springer-Verlag 2012

Abstract Although fluoxetine is useful in the treatment of major depression, 30–40 % of the patients do not respond to therapy. The response seems to be influenced by certain genes which are involved in the drug's pharmacodynamics and pharmacokinetics. The present study reviews the literature on genetic contributions to fluoxetine response in children and adults, and concludes that the different polymorphisms of CYP2D6 and CYP2C9 may influence the blood concentrations of fluoxetine. If the childhood dose is adjusted for weight, differences between children and adults are unlikely. As regards the genes that influence the drug's pharmacodynamics, polymorphisms of SLC6A4, HTR1A and MAO-A seem to be involved in the response to fluoxetine, while the genes COMT, CRHR1,

PDEA1, PDEA11 GSK3B and serpin-1 also seem to play a role. Comparison of different studies reveals that the results are not always consistent, probably due to methodological differences. Other factors such as gender or ethnicity may also influence treatment response.

Keywords Fluoxetine · Pharmacodynamics · Pharmacokinetics · Childhood

Introduction

In most countries, fluoxetine was the first selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) to become available for clinical use [1]. It is currently the only SSRI approved by the European Medicines Agency for the treatment of major depression in children above the age of eight, and in whom psychological treatment has not been effective [2]. Although SSRIs are the first-line treatment for major depression, 30–40 % of the patients do not show a significant response [3]. Differences in fluoxetine response may be influenced by certain genes that are involved in the drug's pharmacokinetics and pharmacodynamics. Most pharmacogenetic studies have focused on investigating genes related to pharmacokinetics [4]. In psychiatry the focus has been placed on cytochrome p450 and its isoforms, since cytochrome P450 is the principal enzyme involved in antidepressant metabolism [5]. Fluoxetine is a racemic mixture of two equally potent enantiomers, (S)- and (R)-fluoxetine [6]. The difference between the enantiomers is that their metabolite, called norfluoxetine, has two enantiomers of different potency ((S)- and (R)-norfluoxetine). (S)-norfluoxetine is twenty times more potent in blocking serotonin reuptake than the (R)- form [1, 7–9].

A. Blázquez (✉) · M. T. Plana · L. Lázaro
Department of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology,
Institute of Neurosciences, Hospital Clínic Universitari,
Barcelona, Spain
e-mail: abhinojo@clinic.ub.es

S. Mas · A. Lafuente
Department of Anatomic Pathology, Pharmacology
and Microbiology, University of Barcelona, Barcelona, Spain

S. Mas · A. Lafuente · L. Lázaro
IDIBAPS (Institut d'investigacions Biomèdiques
August Pi i Sunyer), Barcelona, Spain

S. Mas · A. Lafuente · L. Lázaro
CIBERSAM, Barcelona, Spain

L. Lázaro
Department of Psychiatry and Clinical Psychobiology,
University of Barcelona, Barcelona, Spain

Published online: 12 July 2012

 Springer

Numerous studies indicate that cytochrome P450 (particularly the CYP2D6 isoenzyme) is involved in the N-demethylation of fluoxetine to norfluoxetine, while the enzymes CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 also play a role [7, 9–11]. It has been postulated that the large inter-individual variation in fluoxetine blood concentrations could be due to differences in CYP2D6 and CYP2C9 activity [11, 12]. The present study reviews the literature on the genetic polymorphisms of CYP2D6 and CYP2C9, which may contribute to inter-individual variations in fluoxetine response.

Genetic factors affecting the pharmacodynamics of fluoxetine also influence the response to the drug. Pharmacodynamics is the study of the biochemical and physiological effects of drugs on the body and the mechanisms of drug action [4]. Fluoxetine specifically inhibits neuronal re-uptake of serotonin, thus increasing the concentration of serotonin at the synapse and reinforcing serotonergic neuronal transmission. Therefore, genes associated with serotonin transport, synthesis, modulation and degradation, as well as others that will be mentioned in the results section, have been proposed as pharmacogenetic targets. Fluoxetine also has slight effects on other neurotransmitters that have been proposed as pharmacogenetic targets.

With respect to the pediatric population, studies of the pharmacogenetics of fluoxetine are scarce. The current pharmacokinetic data on fluoxetine in children are similar to those published in adults [13]. Most studies of the pharmacodynamics of antidepressants have been performed in adults. In children, we found one study of serotonin transporters and citalopram [2], and two studies of genes associated with serotonin synthesis and degradation [2, 14].

This study reviews the literature on genetic contributions to the pharmacodynamics and pharmacokinetics of fluoxetine in adults and children. The aim of research in this field is to discover new therapeutic targets and to develop personalized treatments.

Method

A literature search was conducted in the PubMed database (<http://www.pubmed.gov>) using the search terms "Fluoxetine pharmacogenetics", "Fluoxetine pharmacokinetics", "Fluoxetine pharmacodynamics", "CYP2D6", "CYP2C9", "CYP219", "serotonin transporter", "serotonin receptors", "serotonin synthesis", "serotonin degradation", and "other genes related to fluoxetine pharmacodynamics". All the publications available up to July 2011 were included. The data obtained were used to identify the genes involved in fluoxetine response.

Results

Pharmacokinetics

Adults

After oral administration, fluoxetine is almost completely absorbed. Due to first-pass hepatic metabolism, oral bioavailability is below 90 %, after which the drug is distributed. Fluoxetine is the SSRI with the greatest distribution volume. Its excretion is mainly renal [1, 6] and it has a long half-life ($t_{1/2}$) of 2–4 days. For norfluoxetine the $t_{1/2}$ ranges from 7 to 15 days. Because of the long $t_{1/2}$ the cytochrome inhibitory effect remains for weeks after treatment discontinuation [9]. Fluoxetine exhibits nonlinear kinetics, indicated by a disproportionate increase in its blood concentration after dose escalation. Blood concentration is not related to adverse effects or clinical improvement [1, 6, 15].

CYP2D6 The CYP2D6 gene has been mapped to chromosome 22 (at position 22q13.1) [10, 16]. To date, 74 allelic variants and a series of sub-variants of the CYP2D6 gene have been reported, and the number of alleles is still growing [16, 17]. They comprise are fully functional alleles, alleles with reduced function and null (non-functional) alleles whose enzyme activity ranges from zero to ultrarapid metabolism. Consequently, the application of standard doses may lead to adverse effects, or alternatively may have no effect at all. Phenotypically, patients are classified as ultrarapid metabolizers (UMs), extensive metabolizers (EMs), intermediate metabolizers (IMs) and poor metabolizers (PMs) [8, 10, 16–18]. The percentages of each phenotype in the Caucasian population are summarized in Table 1 [11, 16, 17, 19, 20]. PMs may present a prolonged therapeutic effect or drug-related toxicity after normal doses, reflecting a genetic predisposition to drug-induced effect. By contrast, UMs may not achieve therapeutic levels of the drug given at standard dose, so their main problem is a lack of treatment response [8, 10, 21]. Under steady-state conditions the contribution of CYP2D6 is diminished due to saturation and inhibition by both fluoxetine and norfluoxetine, and the difference between EMs and PMs is reduced [11]. It is suggested that the initial dose of CYP2D6 for PMs may be 50–70 % and for EMs 110–120 % of the average dose [19, 22]. Poor metabolizers are uncommon in the Asian population (1–2 %), whereas UMs are commonly found among Ethiopians and North Africans (16–29 %). There are also differences in (S)- and (R)-fluoxetine clearance. The distribution of different mutated alleles varies according to the ethnic group [10, 11, 16, 18]. Table 1 summarizes the mutated alleles found in the Caucasian population.

Eur Child Adolesc Psychiatry

Table 1 CYP2D6 phenotypes in the Caucasian population

| Phenotype | Percentage (%) | Number of functional alleles | Alleles |
|-----------|----------------|--|------------------------------------|
| UM | 3–5 | More than two functional alleles | *1 × 2 N |
| EM | 70–80 | two normal alleles | *1 |
| IM | 10–17 | One allele with reduced function and one non-functional or two with reduced function | *10*14*17*18*36 *41*47*49*50*51*57 |
| PM | 5–10 | Two non-functional alleles | *3*4*5*6 |

Fluoxetine and norfluoxetine are potent CYP2D6 inhibitors [8, 15]. In one fluoxetine study conducted in a population of 78 Caucasian patients, no differences were found between different CYP2D6 phenotypes (UM, EM, IM, PM) in relation to either the dose-normalized plasma concentrations of any of the enantiomers or the active moiety (which means, for example, the sum of (S)-fluoxetine, (R)-fluoxetine and (S)-norfluoxetine). However, the authors reported that the plasma concentration of (S)-norfluoxetine was very low in PMs, and that the (S)-norfluoxetine/(R)-norfluoxetine ratio was higher in homozygous than in heterozygous EM patients ($P < 0.05$). These results suggest that CYP2D6 polymorphisms may contribute to inter-individual variability in fluoxetine pharmacokinetics at the steady state. One limitation of this study was that only one PM patient was included [11].

A study by Llerena et al. [12] of 64 Caucasian patients obtained different results regarding the relationship between CYP2D6 polymorphisms and plasma concentrations of fluoxetine. The authors showed that dose-corrected plasma concentrations of fluoxetine were related to the number of active genes of CYP2D6 ($p < 0.01$). In a study of 278 patients treated with different SSRIs (42 with fluoxetine), Serretti et al. [23] found no relationship between treatment response and CYP2D6. Interestingly, the doses were not adjusted in this study, and treatment response was measured as clinical improvement on the Hamilton Rating Scale for Depression.

CYP2C9 CYP2C9 has been reported to catalyze the metabolism of antidepressants, and it is involved in the N-demethylation of fluoxetine in the liver [1, 24]. As in the case of CYP2D6, fluoxetine also inhibits CYP2C9 activity [25]. The gene is located on chromosome 10 and several allelic variants causing decreased activity have been identified. The most common allele is *1, and the combination with normal activity is called *1/*1. Research has so far identified two allelic variants with different activities, called *2 and *3 [20, 26]. In the Caucasian population, the percentage of *2 carriers varies from 8 to 12 %, while the range is 3–8 % for *3 carriers [10, 20, 26]. In Asian and African populations the rates of *2 and *3 carriers remain low. The least common combination is

*3/*3, which seems to be related to pharmacokinetic alterations. Carriers of the *3 allele show less enzymatic activity (5 % less than the *1 allele), while *2 allele carriers present intermediate enzymatic activity (12 % compared to the *1 allele) [10, 11, 20, 27]. Llerena et al.'s fluoxetine study sought to determine the relationship between CYP2C9 polymorphisms and treatment response. Only patients with two active CYP2D6 genes were selected to avoid bias, and the authors also adjusted doses. They observed that the dose-corrected plasma concentrations of fluoxetine and active moiety (fluoxetine plus norfluoxetine) were higher in patients with the combinations *1/*2 and *1/*3 than in those with *1/*1 ($p < 0.05$) [12]. These results were confirmed by another study which, to avoid bias, selected only EM patients who were homozygous for CYP2D6. The authors found that (R)-fluoxetine concentrations were lower in CYP2C9*1 homozygous patients than in the other participants ($p < 0.05$) [11]. This study also found that CYP2C9*3 carriers had higher blood concentrations of (R)-fluoxetine, (S)-fluoxetine and (R)- + (S)-fluoxetine than the other phenotypes. The authors concluded that the *3 allele was the one with least activity.

Other CYP CYP2C19: This cytochrome has a role in antidepressant metabolism. The percentage of PMs varies according to ethnicity, from 2–5 % among Caucasians to approximately 15–25 % in the Asian population [10, 11, 19, 20]. The alleles associated with PM are *2 and *3. In Caucasians, it is usual to find *2 associated with less enzymatic activity. In studies with the Asian population an association between CYP2C19 and antidepressant response has been reported [24], in particular in N-demethylation [28]. In one study in Caucasians, a significantly lower level of depressive symptoms in PMs of CYP2C19 was found [29], although no dose correction seems to be necessary in people treated with fluoxetine [19].

Children and adolescents

Previously it was thought that pharmacokinetics of children and adolescents was very different from that of adults. This affirmation is true for some drugs in the first years of life. Fluoxetine is recommended for children aged 8, and we

found no differences in absorption, distribution or excretion compared with adults.

Drug absorption In newborns, gastric pH is high (2.3–3.6) and falls to adult levels (1.4–2.0) by the age of 2 years. By contrast, gastric emptying is slow in infants and reaches adult levels later in childhood [30, 31]. Drug bioavailability is influenced by gastric pH, gastric emptying, and intestinal metabolism, and by the age of 5 years it is similar to adults for most drugs [31, 32]. During childhood, therefore, the effect of administered drugs may be delayed [33].

Distribution After absorption a drug is distributed. Distribution depends on molecular weight, the ionization constant, and on aqueous and lipid solubility. Children under 2 years have a larger distribution volume due to an increased water volume (60 %). It should be noted, therefore, that the distribution volume of newborns is larger for hydrophilic drugs and smaller for lipophilic drugs than it is in adults, although the adult level is reached by the age of 3–5 years [30, 31, 33]. Drug binding to proteins such as albumin reaches adult levels by the age of 1 year [31, 32].

Hepatic metabolism Most drugs are metabolized by cytochrome P450 (CYPs), and as noted above both CYP2D6 and CYP2C9 are involved in fluoxetine metabolism [33]. No phenotypic differences between adult and children have been reported to date, and therefore one finds similar percentages of PM, IM, EM and UM individuals in children and in adults. Enzymatic activity differences are responsible for inter-individual variation in plasma concentrations of psychotropic medication [33].

Some years ago it was believed that children have an increased metabolism for all drugs, but it is now known that this depends on the enzyme involved. In the case of CYPs, the total liver content is lower at birth (50–70 % compared to adult levels) and reaches adult levels by the age of 1 year. CYP2C9 activity is high at birth and reaches adult levels by puberty, whereas CYP2C19 activity is low at birth and reaches adult levels by the age of 5 years. The differences between adults and children are not important if adjustments are made for liver weight. The activity of CYP2D6 is considerably lower at birth, but reaches adult levels by the age of 2–3 years [30, 31].

Fluoxetine is a well-tolerated drug. The literature contains only one study about fluoxetine pharmacokinetics in children. This study, by Wilens et al., was based on a sample of ten children (6–12 years old) treated with 20 mg of fluoxetine daily and were compared with 11 adolescents. The results showed that children have twofold higher maximum concentrations than adolescents, while the concentration of norfluoxetine was 1.7 times higher than in

adolescents. When the authors took into account the children's weight they found no differences between children and adolescents and recommended that treatment begins at 10 mg daily in pre-pubertal children and 20 mg daily in adolescents [13–34].

Excretion Glomerular filtration, tubular absorption, urine pH and tubular secretion reach adult values by the age of 6–12 months [30, 32].

Pharmacodynamics

Serotonergic system

Serotonin transporter The human gene encoding the serotonin transporter (SLC6A4) has been one of the most widely studied genes in relation to antidepressant response. This gene is located on chromosome 17, at position 17q11.1-q12, and it is involved in serotonin transport to the presynaptic neuron. The gene's expression could be altered by a polymorphism which is involved in gene transcription. This polymorphism is called 5-HTTLPR and is an insertion/deletion located in the promoter region of SLC6A4 [17, 35]. 5-HTTLPR has two different alleles, known as *s* and *l* [3, 36]. The *s* allele has half the transcriptional activity of the *l* allele, and is present in 49 % of Caucasians [3, 37]. Two studies in Caucasian [36, 37] populations concluded that fluoxetine response is influenced by the 5-HTTLPR polymorphism. Individuals who are homozygous for the *l* allele are believed to respond better to fluoxetine treatment, and also have fewer side effects (Table 2). Another study which divided the sample according to age (under/over 25 years) concluded that the *ss* genotype was associated with worse response to fluoxetine. In depressed patients under the age of 25 genotype was not a significant predictor of outcome, whereas in the over-25 *s* the *ss* genotype was a significant predictor of a lower likelihood of response [38]. In studies in Chinese, among whom 79 % of the population carries the *s* allele, the results are similar to those for Caucasians (i.e. *l* carriers respond better to treatment) [39, 40]. One study conducted with a Korean population found that individuals who were homozygous for the *s* allele responded better to fluoxetine than *l* carriers [41] (Table 2). These results were confirmed in another study by Kim et al. [42]. The reason for this ethnic difference remains unclear. One explanation could be differences in allelic frequencies; in the Korean and Japanese populations only 25 % carried the *l* variant of 5-HTTLPR. Another explanation could be that 5-HTTLPR is linked to unknown functional variants. It may be an associated marker in linkage disequilibrium with a functional site, rather than a functional polymorphism itself [42] (Table 2). With respect to the pediatric population it

Table 2 Genes related with serotonin transport and response to fluoxetine

| Gene | Polymorphism | Scale | Study period subjects | Fluoxetine dose (mg/day) | Results | Authors |
|--------|--------------|---|-----------------------|--------------------------|--|-------------|
| SLC6A4 | 5-HTTLPR | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 12 weeks 36 | 40-60 | Allele 1 better treatment outcome $p = 0.03$ | Perlis [37] |
| | 5-HTTLPR | Clinical Global Impression (CGI) | 12 weeks 96 | 40-60 | Response associated with 5-HTTLPR $p = 0.037$ | Peters [36] |
| | 5-HTTLPR | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 4 weeks 121 | 20-60 | l homozygous better response $p = 0.013$ | Yu [39] |
| | 5-HTTLPR | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 4 weeks 224 | 20-40 | l homozygous better response $p < 0.001$ | Hong [40] |
| | 5-HTTLPR | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 6 weeks 120 | 20-50 | s homozygous better response $p = 0.007$ | Kim [41] |
| | 5-HTTLPR | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 6 weeks 119 | 20-40 | s homozygous better response $p = 0.006$ | Kim [42] |
| SLC6A4 | STin2 | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 6 weeks 120 | 20-50 | l2 homozygous better response $p = 0.0001$ | Kim [41] |
| | STin2 | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 4 weeks 224 | 20-40 | No association STin2 with treatment response $p = 0.246$ | Hong [40] |

has been postulated that the s allele is related to stress [43, 44]. In the presence of adverse life events, female carriers of the s allele appear to have a higher risk of developing depression [14]. Fluoxetine use in children has not been assessed, although there is one study involving citalopram in the Caucasian population, in which the authors concluded that s homozygous individuals responded worse to treatment and showed less symptomatic remission [2] (Table 3).

The SLC6A4 transcription may also be altered by another polymorphism called STin2 [45]. STin2 consists of a variable number of tandem repeats within intron 2, and it could alter the role of SLC6A4 in brain development and synaptic plasticity. It has two alleles, a short allele called 10 and the long one called 12. A relationship between this polymorphism and antidepressant response has been hypothesized. One study of fluoxetine or paroxetine found a better response to antidepressants among individuals who were l2 homozygous [41]. STin2 also exerts a synergistic effect with 5-HTTLPR [3], but research has been unable to find an association between treatment response and STin2 [40, 46, 47] (Table 2). A study in children with various antidepressants in doses corresponding to fluoxetine 40 mg/day also found no association between STin2 and treatment response [48].

There is another polymorphism called rs25531, just upstream of the HTTLPR in the gene's promoter region, which showed evidence of affect transcription activity. The rs25531 has two alleles called G and A. An association with non-response to fluoxetine and G allele has been

observed. Experiments showed that this polymorphism altered the binding of nuclear extracts to a consensus sequence for the activator protein 2 transcription factor, which is believed to be a critical factor in regulating neural gene expression in mammals [17, 49].

Serotonin receptors Serotonin receptors are the most important candidates for modulation of antidepressant response, and most antidepressants increase the concentration of serotonin present in the synaptic cleft [3]. The serotonin 1A receptor (HTR1A) is located on chromosome 5, at position 5q11.2-13. The polymorphism 1019C/G (rs6295) regulates HTR1A transcription, and it has two alleles called C and G. Fluoxetine studies in Caucasian populations have failed to find a relationship between fluoxetine response and this polymorphism [17, 36, 50]. By contrast, one study with Asians reported a better response to fluoxetine among individuals who were homozygous for the G allele [40] (Table 4). The serotonin 2A receptor (HTR2A) is located on chromosome 13, at position 13q-14-q21, and it has two polymorphisms that may alter its transcription: 102T/C (rs6313), where the C allele would express less mRNA than would the T form, and 1438A/G (rs6311), where the G allele would express less mRNA than the A form. There is considerable discrepancy among HTR2A studies. Some studies have found no relationship between antidepressant response and HTR2A [40, 51], whereas others have reported an association [36, 49]. In children, HTR2A has not been associated with antidepressant response [44] or major depression [52].

Table 3 Genes related to antidepressants response in children

| Gene | Polymorphism | Scale | Study period Subjects | Fluoxetine dose (mg/day) | Results | Authors |
|--------|------------------------|---|--------------------------|--------------------------|---|-----------------------------|
| SLC6A4 | 5-HTTLPR | Children's Depression Rating Scale (CDRS-R) | 6 weeks 74 | 20-40 mg | I homozygous better response $p = 0.04$ | Kronenberg ^a [2] |
| TPH2 | G703T | Children's Depression Rating Scale (CDRS-R) | 6 weeks 74 | 20-40 mg | G homozygous better response $p < 0.05$ | Kronenberg ^a [2] |
| FKBP5 | rs3800373 rs1360780 | Children's Depression Rating Scale (CDRS-R) Clinical Global Impression (CGI) | 8 weeks 176 | 40 mg | No association between FKBP5 and antidepressant response $p > 0.05$ | Brent [48] |

^a Study conducted with citalopram

Table 4 Genes related with serotonin and fluoxetine response

| Gene | Polymorphism | Scale | Study period Subjects | Fluoxetine dose (mg/day) | Results | Authors |
|-------|-------------------|---|--------------------------|--------------------------|--|-------------|
| HTRA1 | C-1019-G | Clinical Global Impression (CGI) | 12 weeks 96 | 40-60 mg | No association HTRA1 with treatment response $p > 0.05$ | Peters [36] |
| | C-1019-G | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 4 weeks 224 | 20-40 mg | G homozygous better response $p = 0.009$ | Hong [40] |
| | C-1019-G | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 4 weeks 206 | Not specified | No association between HTRA1 and treatment response $p > 0.05$ | Noro [50] |
| | C-1019-G | Montgomery-Asberg Depression Rating Scale (MADRS) | 6 weeks 106 | Not specified | No association between HTRA1 and treatment response $p > 0.05$ | Illi [51] |
| HTRA2 | 1438A/G | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 4 weeks 206 | Not specified | No association between HTRA2 and treatment response $p > 0.05$ | Noro [50] |
| | 102T/C | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 4 weeks 224 | 20-40 mg | No association between HTRA2 and treatment response $p > 0.05$ | Hong [40] |
| | 1438A/G 102T/C | Clinical Global Impression (CGI) | 12 weeks 96 | 40-60 mg | Association between HTRA2 and treatment response $p < 0.05$ | Peters [36] |
| | 1438A/G 102T/C | Montgomery-Asberg Depression Rating Scale (MADRS) | 6 weeks 106 | Not specified | No association between HTRA2 and treatment response $p > 0.05$ | Illi [51] |
| TPH1 | 218A/C | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 6 weeks 115 | 20-80 mg | No association between TPH1 and treatment response $p > 0.05$ | Wang [53] |
| MAO-A | VNTR | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 4 weeks 228 | 20-40 mg | Better response in women 3R/3R $p = 0.024$ | Yu [56] |
| | VNTR | Clinical Global Impression (CGI) | 12 weeks 96 | 40-60 mg | Treatment response is associated with VNTR | Peters [36] |
| COMT | 158Val/Met | Hamilton Rating Scale for Depression (HRSD) | 8 weeks 334 | 20-40 mg | Val carriers respond worse to treatment $p = 0.02$ | Tsai [54] |

Serotonin synthesis Tryptophan hydroxylase 1 (TPH1) is an enzyme encoded by the TPH1 gene, located on chromosome 11 at position 11p15.3-p14, and it is expressed in peripheral organs. TPH1 has great affinity for tryptophan,

and also shows high enzymatic activity. It has two polymorphisms, called 218A/C and 799A/C (it is not known whether 799A/C alters TPH1 activity). Most studies have found no association between fluoxetine response and the

218A/C (rs1800532) polymorphism [17, 40, 52], although there is one exception to this [36] (Table 4). Tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) is located on chromosome 12, at position 12q21.1, and is more commonly found in brain tissue. TPH2 has several polymorphisms which have been associated with major depression, suicidal behavior and fluoxetine response [36, 54]; some of them, such as G1463A (Arg441His) can alter its transcription. Poor treatment response has been observed in depressed patients carrying 1463A [55]. Another polymorphism that has been studied is G703T (rs4570625). One study with citalopram found that children who are homozygous for the G allele responded better to treatment [2] (Table 3).

Serotonin degradation Monoamine oxidase A (MAO-A) is encoded by the MAO-A gene, located on chromosome X at position XP11.23, and its transcription can be altered by the VNTR polymorphism. VNTR has two alleles: 3R and 4R. The 4R allele, considered to be a long allele, has more transcription activity than the short one (3R). MAO-A plays an important role in the metabolism and regulation of central serotonin and norepinephrine, which in turn play a part in the pathogenesis of major depression disorder. MAO-A is associated with depression through its involvement with serotonin and norepinephrine [17, 56]. Several studies have found an association between MAO-A VNTR polymorphism and antidepressant response [36] or depression [56] (Table 4). However, this association has not been found in children [14]. One study reported that females who were homozygous for 3R responded faster to fluoxetine than those who were 4R carriers [56] (Table 4).

Catechol-O-methyltransferase (COMT) COMT is located on chromosome 22, at position 22q11.1-q11.2, and its activity can be altered by the polymorphism 158Val/Met (rs4680). Met has lower transcriptional activity than Val. The 158Val/Met polymorphism has been associated with suicidal behavior and personality traits, and it is also involved in dopamine degradation [17, 57]. One fluoxetine study in an Asian population found that individuals who were homozygous for Val showed a worse treatment response than Met carriers, and that men were also more influenced by genotype [57] (Table 5). In the Caucasian population, Met carriers have been reported to show a poorer response to treatment [58]. No association between COMT and anxiety or depression has been found in children [59].

Other genes related to fluoxetine pharmacodynamics

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) BDNF is a small protein involved in neuronal growth and synaptic and neuronal plasticity. It is encoded by the BDNF gene, which is located on chromosome 11 at position 11p13. The

polymorphism 196G/A (rs6265) is a valine substitution by methionine in exon 1 (Val66Met) [60]. Antidepressants seem to influence BDNF synthesis [61]. Fluoxetine studies have found no association between BDNF and antidepressant response, although depression was observed to remit more quickly in individuals who were Met/Val heterozygous for 196G/A as compared to homozygous patients [60, 62] (Table 5). One study of obsessive-compulsive disorder found an association between BDNF and antidepressant response [63]. BDNF levels have also been reported to be decreased in depressed children and adolescents [64].

Corticotropin-releasing hormone receptor 1 (CRHR1) Hypothalamic-pituitary-adrenal dysfunction is present in most depressed patients, and therefore CRHR1 is probably involved in antidepressant response. It is located on chromosome 17, at position 17q12-q22 [17, 65]. Two studies in Caucasian and Asian populations associated three polymorphisms (rs1876828, rs242939, rs242941) and one haplotype (GAG) with antidepressant response [66] (Table 5). Another study concluded that the relationship between polymorphisms and depression depends on anxiety levels [67].

Binding protein 5 (FKBP5) FKBP5 is a co-chaperone member of the immunophilin protein family. It plays a role in immunoregulation and in basic cellular processes involving protein folding and trafficking. Its polymorphisms have been associated with psychiatric disorders [68], and the rs1360780 polymorphism seems to be involved in general antidepressant response [69, 70] (Table 5). Although one study of children and several antidepressants reported an association between suicide and FKBP5 ($p = 0.025$), no association was found between FKBP5 and antidepressant response [48] (Table 3).

Glucocorticoid receptor (NR3C1 or GR) This is the receptor to which cortisol and other glucocorticoids bind. NR3C1 regulates genes that control development, metabolism and immune response. In humans the GR protein is encoded by the NR3C1 gene, which is located on chromosome 5 (5q31). Numerous genetic polymorphisms within the GR gene have been described. Research has yet to demonstrate that NR3C1 plays a role in depression, despite the fact that antidepressants stimulate NR3C1 action [71, 72]. There are no published studies with fluoxetine, but one study with escitalopram and nortriptyline reported an association between NR3C1 and antidepressant response [72].

CAMP responsive element binding protein 1 (CREB1) CREB1 is a protein which, in humans, is encoded by the CREB1 gene. This protein binds the cAMP response

Eur Child Adolesc Psychiatry

involved in cellular functions including gene expression, cellular architecture and apoptosis, and it is mainly expressed in neuronal tissue during development. GSK3B inhibition seems to play a role in the therapeutic effect of antidepressants [79]. GSK3B levels are increased in depressed patients, and BDNF and CREB1 may interact with GSK3B in relation to antidepressant response [80]. One study with fluoxetine and citalopram reported no association between GSK3B polymorphisms and depression, although the authors did find an association between the rs334558, rs13321783, rs2319398 and rs6808874 polymorphisms and antidepressant response after 4 weeks of treatment. As for the different haplotypes of the four polymorphisms, TAGT carriers have been reported to show a poorer treatment response at 4 and 8 weeks [80] (Table 5).

Serpin-1 Serpin-1 is also known as PAI-1 and is located on chromosome 7, at position 7q21.3-q22. Several polymorphisms, such as 4G/5G (rs1799889), may alter its transcription. The 4G allele transcribes more actively than the 5G allele. Serpin regulates the plasminogen activator (tPA), which is involved in learning, memory, stress, neuronal degeneration and addictions. tPA is involved in the cleavage of proBDNF in the brain. Given that BDNF has a central role in major depression disorder pathogenesis and in antidepressant action, it is possible that tPA may also be involved in major depression disorder pathogenesis. One study with fluoxetine and citalopram reported a relationship between serpin-1 and both depression and antidepressant response [81] (Table 5).

Conclusions

This review systematically summarizes the available empirical evidence concerning the influence of pharmacogenetics on the response to fluoxetine treatment in patients diagnosed with major depressive disorder. The main limitations of this review are the low number of studies with antidepressants in children and adolescents and the methodological differences between the studies collected.

In children, only one pharmacokinetic study with fluoxetine was found [13]. The information suggests that there are no differences between adults and children (aged 8 years) in relation to the absorption, distribution, metabolism or excretion of fluoxetine, when children's weight is taking into account. Currently, given the lack of a clear relationship between fluoxetine dose and response to treatment, dosage adjustments in pediatric patients should continue to be based on observed efficacy and tolerability.

Similarly, very few studies of pharmacodynamics in children have been performed. With regard to SCL6A4 and

TPH2 one study in children with citalopram was found [2]. The results suggest that the polymorphisms 5HTTLPR of SCL6A4 and G703T of TPH2 are involved in response to treatment. Although the study was not done performed with fluoxetine, the results are similar to the ones obtained in adults with fluoxetine. The studies in children suggest that age may not influence the pharmacogenetics of fluoxetine, but further studies are required to confirm these results.

In relation to the methodologies used in the studies, differences were found regarding the study period, the number of subjects, the fluoxetine dose (from 10 to 80 mg/day) and the use of specific scales to measure clinical improvement. These methodological differences may explain the disparity in results. Further studies based on stricter criteria are required to confirm the results obtained so far, and to identify new therapeutic targets for improving antidepressant treatment.

Another point to take into account is ethnicity. In the case of polymorphism 5HTTLPR of SCL6A4 the response seemed less favorable for Caucasian patients with s/s genotype than for l/l genotype [34, 35], while in Asians effects in both directions were observed. In Chinese populations better response to treatment was related to l/l genotype [37, 38], while in Korean and Japanese populations the s/s genotype was associated with favorable response [39]. For other polymorphisms of the genes HTR1A, COMT, PDEA1, PDEA11, GSK3B and serpin-1 an association between these polymorphisms and fluoxetine response was found in Asian population. Studies in Caucasian population are needed to establish whether these polymorphisms are involved in the fluoxetine response.

On the basis of our review we conclude that fluoxetine response may be influenced by certain genes which are involved in its pharmacodynamics and pharmacokinetics. As regards pharmacokinetics, different genetic polymorphisms of CYP2D6 and CYP2C9 influence the blood concentrations of fluoxetine. Research has yet to demonstrate a correlation between plasma concentrations and clinical improvement, so the benefit of knowing the patient's phenotype would be to avoid adverse reactions or a lack of drug effect. Further fluoxetine studies are required to confirm the results obtained by Llerena et al. [12], who reported that poor metabolizers of CYPs have higher plasma concentrations of fluoxetine.

With respect to pharmacodynamics, some genes are related to fluoxetine response, while others appear to have no mediating effect. Those genes for which there are still no conclusive results as regards their role in relation to fluoxetine response include SCL6A4 (STin2), HTR2A, TPH1, TPH2, BDNF, FKBP5, NR3C1 and CREB1. Pharmacogenetic studies indicate some candidate genes that may be involved in fluoxetine response. This area of research has great potential, particularly in psychiatry.

 Springer

given the lack of biologically based treatment guidelines. There is great hope that it will soon be possible to personalize psychiatric treatments based on genetic profiles.

Acknowledgments This study was financially supported by Alicia Koplowitz Foundation and Centro de Investigación Biológica en Red de Salud Mental (CIBERSAM).

Conflict of interest None.

References

- Hiemke C, Härter S (2000) Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacol Ther* 85(1):1–28
- Kronenberg S, Frisch A, Rotberg B, Carmel M, Apter A, Weizman A (2008) Pharmacogenetics of selective serotonin reuptake inhibitors in paediatric depression and anxiety. *Pharmacogenomics* 9(11):1725–1736
- Kato M, Serretti A (2010) Review and meta-analysis of antidepressant pharmacogenetic findings in major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 15:473–500
- Pomelli S, Drago A, Fabbri C, Gibino S, Calati R, Serretti A (2011) Pharmacogenetics of antidepressant response. *J Psychiatry Neurosci* 36(2):87–113
- Steimer W, Müller B, Leucht S, Kissling W (2001) Pharmacogenetics: a new diagnostic tool in the management of antidepressive drug therapy. *Clin Chim Acta* 308:33–41
- DeVane CL (1999) Metabolism and pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibition. *Cell Mol Neurobiol* 19(4):443–466
- Ring BJ, Eckstein JA, Gillespie JS, Binkley SN, Vandenbranden M, Wrighton SA (2001) Identification of the human cytochromes P450 responsible for in vitro formation of R- and S-Norfluoxetine. *J Pharmacol Exp Ther* 297:1044–1050
- Charlier C, Broly F, Lhermitte M, Pinto E, Anseau M, Plomteux G (2003) Polymorphisms in the CYP2D6 gene: association with plasma concentrations of fluoxetine and paroxetine. *Ther Drug Monit* 25:738–742
- Spina E, Santoro V, D'Arrigo C (2008) Clinically relevant pharmacokinetic drug interactions with second-generation antidepressants: an update. *Clin Ther* 30(7):1206–1227
- Scordo MG, Caputi AP, D'Arrigo C, Fava G, Spina E (2004) Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population. *Pharmacol Res* 50:195–200
- Scordo MG, Spina E, Dahl ML, Gatti G, Peracca E (2005) Influence of CYP2C9, 2C19 and D6 Genetic polymorphisms on the steady-state plasma concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 97:296–301
- Llerena A, Dorado P, Berecz R, González AP, Peñas-Lledó EM (2004) Effect of CYP2D6 and CYP2C9 genotypes on fluoxetine and norfluoxetine plasma concentrations during steady-state conditions. *Eur J Clin Pharmacol* 59:869–873
- Wilens TE, Cohen L, Biederman J, Abrams A, Neft D, Faraone S et al (2002) Fluoxetine pharmacokinetics in pediatric patients. *J Clin Psychopharmacol* 22(6):568–575
- Eley TC, Sugden K, Corsico A, Gregory AM, Sham P, McGuffin P et al (2004) Gene-environment interaction analysis of serotonin system markers with adolescent depression. *Mol Psychiatry* 9:908–915
- Zhou SF (2009) Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part II. *Clin Pharmacokinet* 48(12):761–804
- Zhou SF (2009) Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part I. *Clin Pharmacokinet* 48(11):689–723
- Keers R, Aitchison KJ (2011) Pharmacogenetics of antidepressant response. *Expert Rev Neurother* 11(1):101–125
- Hirrichs JW, Loofters HM, Scholten B, van der Weide J (2008) Semi-quantitative CYP2D6 gene doses in relation to metabolic ratios of psychotropics. *Eur J Clin Pharmacol* 64:979–986
- Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M, Wong ML, Licinio J, Roots I et al (2004) Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry* 9:442–473
- Porcelli S, Fabbri C, Spina E, Serretti A, De Ronchi D (2011) Genetic polymorphisms of cytochrome P450 enzymes and antidepressant metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 7(9):1101–1115
- Parker G, Rowe M, Mehta F, Kumar S (2010) Will a new genotyping test help the clinician predict response to antidepressant drugs? *Australian Psychiatry* 18(5):413–416
- Kirchheiner J, Brysen K, Dahl ML, Gram LF, Kasper S, Roots I et al (2001) CYP2D6 and CYP2C19 genotype-based dose recommendations for antidepressants: a first step towards subpopulation-specific dosages. *Acta Psychiatr Scand* 104:173–192
- Serretti A, Calati R, Massat I, Linotte S, Kasper S, Lecubrier Y et al (2009) Cytochrome P450, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes are not associated with the response and remission in a sample of depressive patients. *Int Clin Psychopharmacol* 24:250–256
- Liu Z-H, Shu Y, Huang S-L, Wang L-S, He N, Zhou H-H (2001) Effects of CYP2C19 genotype and CYP2C9 on fluoxetine N-demethylation in human liver microsomes. *Acta Pharmacol Sin* 22(1):85–90
- Schmider J, Greenblatt DJ, von Moltke LL, Karlov D, Shader RI (1997) Inhibition of CYP2C9 by selective serotonin reuptake inhibitors in vitro: studies of phenytoin p-hydroxylation. *Br J Clin Pharmacol* 44:495–498
- Dorado P, Berecz R, Norberto MJ, Yasar Ü, Dahl ML, Llerena A (2003) CYP2C9 genotypes and diclofenac metabolism in Spanish healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 59:221–225
- Dorne JL (2004) Impact of interindividual differences in drug metabolism and pharmacokinetics on safety evaluation. *Fundam Clin Pharmacol* 18:609–620
- Liu ZQ, Cheng ZN, Huang SL, Chen XP, Ou-Yang DS, Jiang CH et al (2001) Effect of the CYP2C19 oxidation polymorphism on fluoxetine metabolism in Chinese healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 52:96–99
- Sim SC, Nordin L, Andersson TM-L, Viriding S, Olsson M, Pedersen NL et al (2010) Association between CYP2C19 polymorphism and depressive symptoms. *Am J Med Genet Part B* 153B:1160–1166
- Yokoi T (2009) Essentials for starting a pediatric clinical study (1): pharmacokinetics in children. *J Toxicol Sci* 34 Suppl 2:SP307–12
- Anderson GD (2010) Developmental pharmacokinetics. *Semin Pediatr Neurol* 17:208–213
- Pichini S, Papaseit E, Joya X, Vall O, Farré M, García-Algar O et al (2009) Pharmacokinetics and therapeutic drugs monitoring of psychotropic drugs in pediatrics. *Ther Drug Monit* 31:283–318
- Van den Anker JN (2010) Developmental Pharmacology. *Dev Disabil Res Rev* 16:233–238
- Findling RL, McNamara NK, Stansbury RJ, Feeny NC, Young CM, Peric FV et al (2006) The relevance of pharmacokinetic studies in designing efficacy trials in juvenile major depression. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 16(1–2):131–145
- Serretti A, Smeraldi E (2004) Neural network analysis in pharmacogenetics of mood disorders. *BMC Med Genet* 5:27

36. Peters EJ, Slager SL, McGrath PJ, Knowles JA, Hamilton SP (2004) Investigation of serotonin-related genes in antidepressant response. *Mol Psychiatry* 9:879–889
37. Perlis RH, Mischoulon D, Smoller JW, Wan YJ, Lamon-Fava S, Lin KM et al (2003) Serotonin transporter polymorphisms and adverse effects with fluoxetine treatment. *Biol Psychiatry* 54:879–883
38. Joyce PR, Mulder RT, Luty SE, McKenzie JM, Miller AL, Rogers GR et al (2003) Age-dependent antidepressant pharmacogenomics: polymorphisms of serotonin transporter and G protein beta3 subunit as predictors of response to fluoxetine and nortriptyline. *Int J Neuropsychopharmacol* 6:339–346
39. Yu YW-Y, Tsai S-J, Chen T-J, Lin C-H, Hong C-J (2002) Association study of serotonin transporter promoter polymorphism and symptomatology and antidepressant response in major depressive disorders. *Mol Psychiatry* 7:1115–1119
40. Hong C-J, Chen T-J, Yu YW-Y, Tsai S-J (2006) Response to fluoxetine and serotonin 1A receptor (C-1019G) polymorphism in Taiwan Chinese major depressive disorder. *Pharmacogenomics J* 6:27–33
41. Kim DK, Lim SW, Lee S, Sohn SE, Kim S, Hahn CG et al (2000) Serotonin transporter gene polymorphism and antidepressant response. *NeuroReport* 11:215–219
42. Kim H, Lim SW, Kim S, Kim JW, Chang YH, Carroll BJ, Kim DK (2006) Monoamine transporter gene polymorphisms and antidepressant response in Koreans with late-life depression. *JAMA* 296(13):1609–1618
43. Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H et al (2003) Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 301:386–389
44. Aslund C, Leppert J, Comasco E, Nordquist N, Orelund L, Nilsson KW (2009) Impact of the interaction between the 5HTTLPR polymorphism and maltreatment on adolescent depression. *Popul Based Study* 39:524–531
45. Ogilvie D, Battersby S, Bubh VJ, Fink G, Harmar AJ, Goodwin GM et al (1996) Polymorphism in serotonin transporter gene associated with susceptibility to major depression. *Lancet* 374(9003):731–733
46. Smits KM, Smits LJM, Schouten JSAG, Stelma FF, Nelemans P, Prins MH (2004) Influence of SERTPR and STin2 in the serotonin transporter gene on the effect of selective serotonin reuptake inhibitors in depression: a systematic review. *Mol Psychiatry* 9:433–441
47. Smits KM, Smits LJM, Peeters F, Schouten J, Janssen R, Smeets H et al (2008) The influence of 5-HTTLPR and STin2 polymorphisms in the serotonin transporter gene on treatment effect of selective reuptake inhibitors in depressive patients. *Psychiatr Genet* 18:184–190
48. Brent D, Melhem N, Ferrell R, Emslie G, Wagner KD, Ryan N et al (2010) Association of FKBP5 polymorphisms with suicidal events in the treatment of resistant depression in adolescents (TORDIA) Study. *Am J Psychiatry* 167(2):190–197
49. Kraft JB, Slager SL, McGrath PJ, Hamilton SP (2005) Sequence analysis of the serotonin transporter and associations with antidepressant response. *Biol Psychiatry* 58:374–381
50. Noro M, Antonijevic I, Formy C, Kasper S, Kocbas NA, Lacubrier Y et al (2010) 5HT1A and 5HT2A receptor genes in treatment response phenotypes in major depressive disorder. *Int Clin Psychopharmacol* 25:228–231
51. Ilb A, Seifli-Scirkeli E, Viki M, Poutanen O, Huhtala H, Mononen N et al (2009) 5-HTR1A, 5-HTR2A, 5-HTR6, TPH1 and TPH2 polymorphisms and major depression. *NeuroReport* 20:1125–1128
52. Shaikh SA, Strauss J, King N, Bulgin NL, Vetro A, Kiss E et al (2008) Association study of serotonin system genes in childhood-onset mood disorder. *Psychiatr Genet* 18:47–52
53. Wang HS, Yeh TL, Chang HH, Gean PW, Chi MH, Yang YK et al (2011) TPH1 is associated with major depressive disorder but not with SSRI/SNRI response in Taiwanese patients. *Psychopharmacology (Berl)* 213:773–779
54. Tsai SJ, Hong CJ, Liou YJ, Yu Y-W, Chen TJ, Hou SJ et al (2009) Tryptophan hydroxylase 2 gene is associated with major depression and antidepressant treatment response. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 33:637–641
55. Zhang X, Gainetdinov RR, Beaulieu JM, Sotnikova TD, Burch LH, Williams RB et al (2005) Loss-of-function mutation in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar major depression. *Neuron* 45:11–16
56. Yu YW-Y, Tsai S-J, Hong C-J, Chen T-J, Chen M-C, Yang C-W (2005) Association study of monoamine oxidase A gene promoter polymorphism with major depressive disorder and antidepressant response. *Neuropsychopharmacology* 30(9):1719–1723
57. Tsai SJ, Gau Y-TA, Hong C-J, Liou Y-J, Yu YW-Y, Chen T-J (2009) Sexually dimorphic effect of catechol-O-methyltransferase val158met polymorphism on clinical response to fluoxetine in major depressive patients. *J Affect Disord* 113:183–187
58. Arias B, Serretti A, Lonnä C, Gasó C, Catalán R, Fañanás L (2006) Analysis of COMT gene (Val 158 Met polymorphism) in the clinical response to SSRIs in depressive patients of European origin. *J Affect Disord* 90:251–256
59. Middeldorp CM, Slof-Op't Landt MCT, Medland SE, Van Beijsterveldt CEM, Bartels M, Willemsen G et al (2010) Anxiety and depression in children and adults: influence of serotonergic and neurotrophic genes? *Genes Brain Behav* 9:808–816
60. Tsai SJ, Cheng CY, Yu YW, Chen TJ, Hong CJ (2003) Association study of a brain-derived neurotrophic-factor genetic polymorphism and major depressive disorders, symptomatology, and antidepressant response. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 123B(1):19–22
61. Allaman I, Fiumelli H, Magistretti PJ, Martin JL (2011) Fluoxetine regulates the expression of neurotrophic/growth factors and glucose metabolism in astrocytes. *Psychopharmacology (Berl)* 216:75–84
62. Zou YF, Wang Y, Liu P, Feng XL, Wang BY, Zang TH et al (2010) Association of brain-derived neurotrophic factor genetic Val66Met polymorphism with severity of depression, efficacy of fluoxetine and its side effects in chinese major depressive patients. *Neuropsychobiology* 61(2):71–78
63. Real E, Gratacós M, Soria V, Escaramis G, Alonso P, Segalés C et al (2009) A brain-derived neurotrophic factor haplotype is associated with therapeutic response in obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry* 66:674–680
64. Pandey GN, Dwivedi Y, Rizavi HS, Ren X, Zhang H, Pavuluri M (2010) Brain-derived neurotrophic factor gene and protein expression in pediatric and adult depressed subjects. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 34:645–651
65. Liu Z, Zhu F, Wang G, Xio Z, Tang J, Liu W et al (2007) Association study of corticotrophin-releasing hormone receptor1 gene polymorphisms and antidepressant response in major depressive disorders. *Neurosci Lett* 414:155–158
66. Licino J, O'Kirwan F, Irizarry K, Meriman B, Thakur S, Jepson R et al (2004) Association of corticotrophin-releasing hormone receptor1 haplotype and antidepressant treatment response in Mexican-Americans. *Mol Psychiatry* 9:1075–1082
67. Dong C, Wonf M-L, Licino J (2009) Sequence variations of ABCB1, SLC6A2, SCL6A3, SLC6A4, CREB1, CRHR1 and NTRK2: association with major depression and antidepressant response in Mexican-Americans. *Mol Psychiatry* 14:1105–1118
68. Zobel A, Maier W (2010) Pharmacogenetics of antidepressive treatment. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 260:407–417
69. Binder EB, Salyakina D, Lichtner P, Wochnik GM, Ising M, Pütz B et al (2004) Polymorphisms in FKBP5 are associated with

- increased recurrence of depressive episodes and rapid response to antidepressant treatment. *Nat Genet* 36(12):1319–1325
70. Horstmann S, Lucae S, Menke A, Hennings JM, Iking M, Roeske D, Müller-Myhsok B, Holsboer F, Binder EB (2010) Polymorphisms in GRIK4, HTR2A, and FKBP5 show interactive effects in predicting remission to antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology* 35(3):727–740
 71. Claes S (2009) Glucocorticoid receptor polymorphisms in major depression. *Ann N Y Acad Sci* 1179:216–228
 72. Uher R, Haezo-Díaz P, Parronid N, Smith R, Rietschel M, Mors O et al (2009) Genetic predictors of response to antidepressants in the GENDEP project. *Pharmacogenomics J* 9:225–233
 73. Serretti A, Chiesa A, Calati R, Massat I, Linotte S, Kasper S et al (2011) A preliminary investigation of the influence of CREB1 gene on treatment resistance in major depression. *J Affect Disord* 128:56–63
 74. Buzescu I, Wigg K, King N, Vetro A, Kis E, Katay L et al (2005) Association study of CREB1 and childhood-onset mood disorders. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 137B: 45–50
 75. Hebb AL, Robertson HA (2007) Role of phosphodiesterases in neurological and psychiatric disease. *Curr Opin Pharmacol* 7:86–92
 76. Wong M-L, Whelan F, Deloukas P, Whitaker P, Delgado M, Cantor RM et al (2006) Phosphodiesterase genes are associated with susceptibility to major depression and antidepressant treatment response. *Proc Natl Acad Sci USA* 103(41):15124–15129
 77. Luo H-R, Wu G-S, Dong C, Arcos-Burgos M, Ribeiro L, Licinio J et al (2009) Association of PDE11A global haplotype with major depression and antidepressant drug response. *Neuropsychiatr Dis Treat* 5:163–170
 78. Esposito K, Reiersen G, Luo HR, Wu GS, Licinio J, Wong M-L (2009) Phosphodiesterase genes and antidepressant treatment response: a review. *Ann Med* 41:177–185
 79. Li X, Zhu W, Roh MS, Friedman AB, Rosborough K, Jope RS (2004) In vivo regulation of glycogen synthase kinase-3beta (GSK3beta) by serotonergic activity in mouse brain. *Neuropsychopharmacology* 29:1426–1431
 80. Tsai S-J, Liou Y-J, Hong C-J, Yu YW-Y, Chen T-J (2008) Glycogen synthase kinase-3b gene is associated with antidepressant treatment response in Chinese major depressive disorder. *Pharmacogenomics J* 8:384–390
 81. Tsai SJ, Hong CJ, Liou YJ, Yu YW, Chen TJ (2008) Plasminogen activator inhibitor-1 gene is associated with major depression and antidepressant treatment response. *Pharmacogenet Genomics* 18(10):869–875

3.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

- 1) Los niveles plasmáticos de la fracción activa de FLX una vez estén corregidos por la dosis (FLX+NORFLX/dosis), correlacionarán con la mejoría clínica y los efectos secundarios al fármaco.
- 2) Estudios previos demuestran que la respuesta a FLX depende de la disponibilidad del fármaco, por tanto los polimorfismos genéticos que regulan la actividad de las proteínas implicadas en estos procesos (CYP2D6, CYP2C9, glicoproteína-P) modularán la respuesta a FLX y podrán utilizarse como marcadores predictivos de la respuesta a FLX.
- 3) Las tasas de remisión y recuperación en un episodio depresivo al año del inicio del tratamiento serán parecidas a las halladas en la literatura. Las tasas de remisión y recuperación vendrán moduladas por la actividad de las proteínas CYP2D6, CYP2C9, glicoproteína-P.

2.2 Objetivos

2.2.1- Principales

1) Estudiar la relación entre los niveles plasmáticos de FLX corregidos por dosis (FLX+NORFLX/dosis) y la mejoría clínica y los efectos secundarios al tratamiento después de 8 y 12 semanas de inicio del tratamiento en pacientes diagnosticados de TDM, TOC o TAG de inicio en la infancia y la adolescencia.

2) Evaluar la influencia de polimorfismos genéticos en *CYP2D6*, *CYP2C9* y *ABCB1* en las concentraciones de FLX y su metabolito activo (NORFLX) en estado de equilibrio, así como también su impacto en la mejoría clínica de niños y adolescentes que están recibiendo este tratamiento.

2.2.2- Secundarios

3) Examinar las tasas de remisión y recuperación de un episodio depresivo mayor al año del inicio del tratamiento, en una cohorte de pacientes tratados con FLX un mínimo de 12 semanas. Evaluar que factores influyen en la remisión/recuperación. Hallar asociaciones entre los polimorfismos genéticos *CYP2D6*, *CYP2C9*, y *ABCB1* y la remisión/recuperación del episodio depresivo.

5.METODOLOGÍA

3.METODOLOGÍA

Los 3 artículos están realizados en la misma muestra de pacientes. Para el tercer artículo, se seleccionaron únicamente los pacientes diagnosticados de TDM, excluyéndose por tanto los diagnosticados de TOC y de TAG. En cada apartado se comentaran las particularidades de cada artículo.

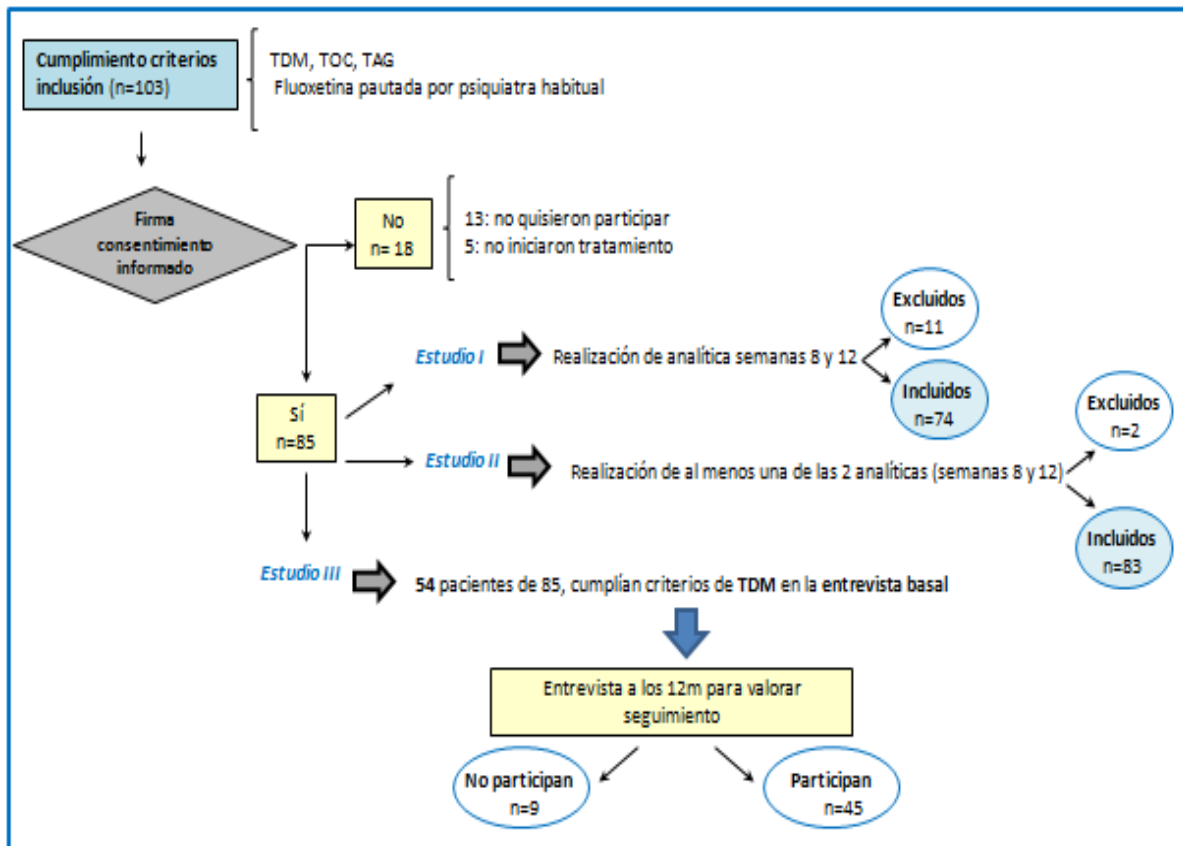
3.1 Participantes

El estudio se llevó a cabo en el Servicio de Psiquiatría y Psicología Infantil y Juvenil del Instituto de Neurociencias del Hospital Clínico de Barcelona. El período de reclutamiento fue de junio de 2011 a mayo de 2013. Un total de 103 pacientes de edades comprendidas entre 10 y 17 años se incluyeron en el estudio por cumplir los criterios de inclusión (diagnóstico de TDM, TOC o TAG según el DSM-IV-TR). El tratamiento de cada paciente era decidido por el psiquiatra responsable del paciente, siguiendo los protocolos de actuación y las guías clínicas del servicio [18, 19, 36, 47]. El psiquiatra responsable del paciente le invitaba a participar en el estudio.

Los criterios de exclusión fueron retraso mental, enfermedad neurológica, autismo, trastornos psicóticos y etnia no caucásica.

De los 103 pacientes con criterios de inclusión en el estudio, 18 no firmaron el consentimiento informado para participar en el mismo. La muestra final del estudio fue de 85 pacientes. La figura 2 muestra la distribución de los pacientes en los 3 estudios.

Figura 2. Algoritmo participación en los 3 estudios.



3.1.1- Estudio I:

De los 74 pacientes que participaron, 24 eran de sexo masculino y 50 de sexo femenino. La media edad fue de 14,72 años (DS=1,83). Los pacientes se distribuyeron según diagnósticos en: TDM (68,9%), TOC (16,2%) y TAG (14,9%). A continuación se enumeran los diagnósticos comórbidos presentes en un 21,6% del sexo masculino y un 56,7% del femenino.

Tabla 5. Distribución diagnósticos comórbidos

| | Género Masculino | | Género Femenino | |
|-------------------------------|------------------|-----|-----------------|------|
| | N | % | N | % |
| Trastorno de pánico | 4 | 5,4 | 10 | 13,5 |
| Fobias (simple+ social) | 6 | 8,1 | 12 | 16,1 |
| Anorexia nerviosa | 2 | 2,7 | 8 | 10,8 |
| Otros trastornos alimentarios | 0 | 0,0 | 10 | 13,4 |
| TDAH ^a | 3 | 4,0 | 1 | 1,3 |
| Tr. negativista desafiante | 1 | 1,3 | 1 | 1,3 |

^aTrastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad

Además de tratamiento con FLX, algunos pacientes recibieron medicaciones concomitantes que se enumeran a continuación en la tabla 6.

Tabla 6. Medicaciones concomitantes

| Pacientes (n) 74 | | |
|----------------------------|-----|------|
| Fármaco | (n) | (%) |
| | 20 | 27,0 |
| Risperidona | 2 | 2,7 |
| Risperidona+Litio | 1 | 1,3 |
| Risperidona+ Metilfenidato | 1 | 1,3 |
| Risperidona+Diazepam | 1 | 1,3 |
| Quetiapina | 3 | 4,0 |
| Aripiprazol+Trazodona | 1 | 1,3 |
| Aripiprazol+Lormetazepam | 1 | 1,3 |
| Olanzapina | 1 | 1,3 |
| Diazepam | 4 | 5,4 |
| Alprazolam | 2 | 2,7 |
| Clorazepato dipotásico | 2 | 2,7 |
| Metilfenidato | 1 | 1,3 |

3.1.2- Estudio II:

En el estudio II participaron 26 pacientes de sexo masculino y 57 de sexo femenino. La media de edad fue de 14,7 años (DS=1,7). Un 27% de la muestra recibía tratamiento concomitante con otros fármacos: un 15,6% recibía tratamiento con antipsicóticos, un 2,4% con estabilizadores y un 13,2% con benzodiazepinas.

3.1.3- Estudio III:

El estudio III es una continuación de los 2 estudios anteriores. Los pacientes que habían sido diagnosticados de TDM y habían realizado tratamiento con FLX un mínimo de 12 semanas fueron invitados a participar en la continuación del estudio al cabo de 12 meses. El período de reclutamiento fue de junio 2012 a mayo 2014. Un total de 54 pacientes cumplían criterios de TDM, de los cuales 8 no quisieron participar en el estudio (la principal causa fue no estar vinculados al año del episodio a los servicios de salud mental). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre la muestra que participó y la que no, en cuanto a sexo, edad al ser diagnosticados, diagnósticos comórbidos, o gravedad evaluada con la escala de depresión CDI a nivel basal (entrada en el estudio). La distribución por sexo fue de 10

pacientes de sexo masculino y 36 femenino, con una media edad al diagnóstico de 14,76 años (SD=1,74). Como diagnósticos comórbidos los más frecuentes fueron los trastornos de ansiedad (41,3%), los trastornos de la alimentación (8,7%) y los trastornos de conducta (2,2%).

3.2-Evaluaciones

En el estudio I y II se administró a nivel basal a padres y pacientes la versión española [111] de la entrevista semi-estructurada K-SADS-PL (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children—Present and Lifetime Version) [112], a fin de diagnosticar trastornos actuales y pasados. Todos los pacientes iniciaron tratamiento con FLX en la semana 0 (evaluación basal) del estudio. La dosis de inicio fue de 10mg/día, aumentándose a 20mg/día durante las semanas 2-8 y siendo posible aumentar a 40mg/día si la respuesta no era la esperada (bajo criterio del terapeuta habitual) y teniendo en cuenta el diagnóstico principal (TDM, TOC o TAG) [18, 19, 36, 47]. El tratamiento podía ser incrementado hasta 60mg/día de la semana 8 a la 12 en los casos en que el diagnóstico fuera de TOC.

En el estudio III se administró nuevamente la entrevista K-SADS-PL a los 12 meses a fin de poder establecer el diagnóstico actual. El término **remisión** se definió como un período asintomático de un mínimo de 14 días. La **recuperación** se definió como un período asintomático de un mínimo de 60 días y para ambos diagnósticos nos basamos en la entrevista K-SADS-PL y la historia clínica durante los 12 meses de seguimiento. También se consideró el término **recaída** como un episodio depresivo después de la remisión y antes de la recuperación. Dichas definiciones fueron establecidas por Frank y col. [113].

3.2.1-Escalas para medir respuesta clínica y efectos secundarios al tratamiento

En los **estudios I y II**, la información sobre la severidad de los síntomas se obtuvo mediante una serie de escalas administradas en la evaluación basal. En las semanas 8 y 12 se volvieron a administrar dichas escalas para valorar la mejoría clínica y se administró una escala para evaluar los efectos secundarios al tratamiento.

A los participantes del **estudio III** se les administraron a los 12 meses nuevamente las escalas **CDI, CGI, CGI-I y EEAG o CGAS**.

Tabla 7. Escalas administradas (detalladas en el apartado de anexos)

***CDI** (inventario de depresión infantil): diseñado para medir la sintomatología depresiva en niños y adolescentes. Consta de 27 ítems. Se considera TDM en aquellos que puntúan más de 19 [114].

***OCI/CV** (versión infantil del inventario de sintomatología obsesivo-compulsiva): Consta de 21 ítems y se auto-administra a niños entre 7 y 17 años. Puntuaciones por encima de 17 se consideran presencia de síntomas obsesivos y/o compulsivos [115].

***CYBOCS** (versión infantil de la escala Yale Brown de obsesiones y compulsiones). Entrevista administrada para evaluar la severidad de sintomatología obsesivo-compulsiva en niños. Puntuaciones por encima de 16 sugieren diagnóstico de TOC [116].

***SCARED** (Screen for child Anxiety related Emotional disorders): diseñado para medir sintomatología ansiosa en niños y adolescentes. Consta de 41 ítems. Puntuaciones por encima de 25 se consideran sugerentes de sintomatología ansiosa. Se administra a pacientes y padres [117].

***CGI** (escala de impresión clínica global): evalúa la gravedad del cuadro clínico. Las puntuaciones van del 1 (normal) al 7 (extremadamente enfermo) [118]. La escala **CGI-I** permite al profesional evaluar la respuesta clínica. Puntuaciones de 1 y 2 sugieren mejoría clínica [109].

***EEAG** [119]/**CGAS** [120] (escala de evaluación de la actividad global): ambas escalas evalúan la actividad psicológica, social y laboral del paciente. La CGAS se administra en pacientes menores de 12 años. Son escalas numéricas en que la puntuación va del 1 al 100. Puntuaciones por encima de 70 se consideran como funcionamiento normal.

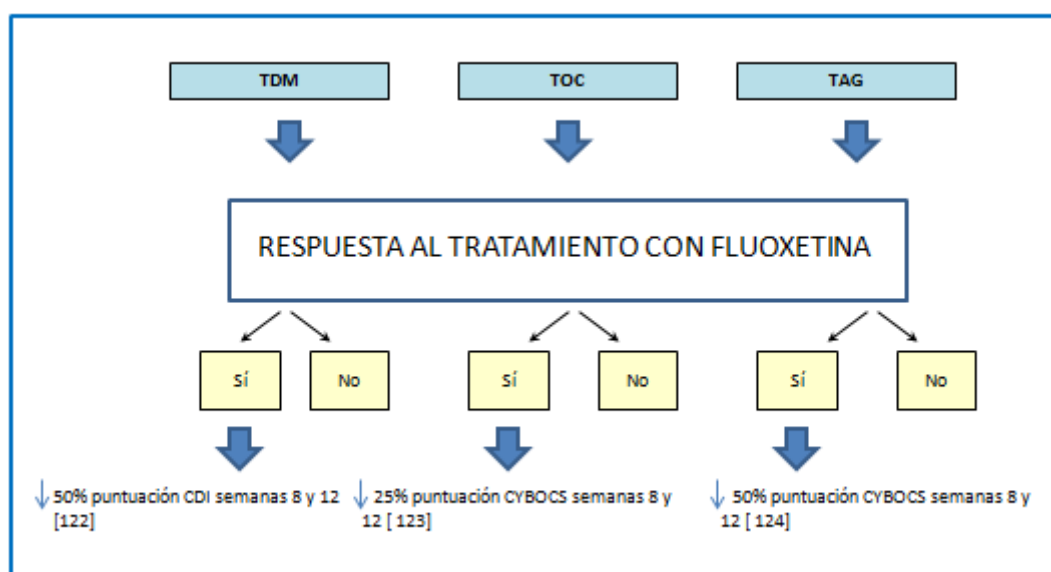
***UKU** (Udvalg for Kliniske Undersogelser): evalúa efectos secundarios al tratamiento [121].

3.2.2- Consideraciones especiales estudios I, II y III

En el *estudio I* la mejoría clínica se evaluó mediante las puntuaciones del CGI-I de forma categórica (mejoría clínica puntuaciones 1 y 2; resto de puntuaciones: no mejoría).

Después se dividió la muestra por diagnósticos: TDM, TOC y TAG para valorar la respuesta al tratamiento con FLX de forma categórica, dividiendo a los pacientes entre respondedores y no respondedores en función de las puntuaciones en las diferentes escalas y según se muestra en la figura 3.

Figura 3. División entre respondedores y no respondedores al tratamiento, en función del diagnóstico.



En el **estudio II**, la mejoría clínica y la puntuación en las diferentes escalas se consideraron una variable continua.

En el **estudio III**, las variables remisión y recuperación se consideraron como variables categóricas nominales, dividiéndose los pacientes entre recuperados/no recuperados; con remisión/sin remisión.

3.3-Obtención de niveles plasmáticos y genotipado

A las 8 y a las 12 semanas después de iniciarse el tratamiento, se realizaron las correspondientes extracciones de sangre para medir los niveles plasmáticos de FLX. Las muestras se recogían por la mañana, antes de la toma de la dosis diaria del fármaco. Las muestras de sangre recogidas se centrifugaron a 1800 x g durante 10 minutos y el plasma obtenido se mantuvo a -20°C hasta ser analizado. Los niveles plasmáticos de FLX y de NORFLX fueron determinados mediante técnicas de cromatografía [125-126].

El ADN genómico se aisló de forma automatizada a partir de 500 µl de sangre entera, usando el sistema MagNA Pure LC 2.0 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). La cantidad y la calidad del ADN se midió espectrofotométricamente usando un NanoDrop™ 2000 (Thermo Fisher Scientific, Surrey, UK). El genotipado se llevó a cabo utilizando el ensayo de genotipado TaqMan® Drug Metabolism para los polimorfismos *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *CYP2D6*6*, *CYP2C9*2* y *CYP2C9*3*; el ensayo TaqMan® Copy Number para identificar el número de copias de *CYP2D6* (*CYP2D6*5* and *CYP2D6*1xN*); y el ensayo prediseñado TaqMan® allelic discrimination para los polimorfismos del *ABCB1* (rs2032582 and rs1045642), mediante el sistema de PCR a tiempo real 7500 de Applied Biosystems (Foster City, California).

3.4-Análisis estadístico

3.4.1- Estudio I

En todos los análisis se tuvieron en cuenta las concentraciones de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX, FLX/NORFLX y la dosis corregida de FLX (FLX+NORFLX/dosis). La correlación de Spearman se utilizó para intentar establecer asociaciones entre la mejoría clínica/efectos adversos y las concentraciones plasmáticas. La relación entre los diferentes diagnósticos y las concentraciones plasmáticas fue investigada usando modelos de ANOVA, modelos no lineales y correlaciones de Spearman. La T de Student o la correlación de Spearman fueron usadas para determinar la influencia del sexo, la edad o la masa corporal en las concentraciones. Todos los valores de p fueron basados en pruebas bilaterales con un $\alpha=0,05$. Para estos análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS en su versión 20.0.

3.4.2- Estudio II

Los datos se analizaron utilizando la versión 20.0 del paquete estadístico SPSS. En función de la distribución de las variables o de las escalas utilizadas, se realizaron análisis no paramétricos mediante el test U de Mann-Whitney, el test de Kruskal-Wallis, el test de comparaciones múltiples o la correlación de Spearman. Para el análisis de haplotipos se utilizó el paquete SNPassoc R.

3.4.3- Estudio III

Las diferencias entre los grupos de sujetos (recuperados/no recuperados y en remisión/ no remisión) se examinaron mediante el test de t de Student o el test de Chi

cuadrado (χ^2). El test de Wilcoxon se utilizó para establecer diferencias entre las variables al inicio (evaluación basal) y al año de evolución. Todos los valores de p fueron basados en pruebas bilaterales con un $\alpha=0,05$. Para estos análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS en su versión 18.0.

3.5-Aspectos éticos

Todos los procedimientos fueron aprobados por el comité ético del hospital. Una vez explicados todos los procedimientos que se llevarían a cabo durante el estudio, los padres firmaron un consentimiento escrito, mientras que los pacientes dieron su consentimiento verbal.

Para los estudios I y II el consentimiento se obtuvo solo una vez. Para el estudio III se firmó otro consentimiento informado tanto a los padres como los pacientes participantes y todos los procedimientos fueron así mismo aprobados por el comité ético del hospital.

7.RESULTADOS

4.RESULTADOS

4.1 Estudio I: "Concentraciones plasmáticas de fluoxetina y mejoría clínica en una muestra de pacientes adolescentes diagnosticados de trastorno depresivo mayor, trastorno obsesivo compulsivo o trastorno de ansiedad generalizada"

4.1.1- Dosis, concentraciones plasmáticas de FLX, y su relación con variables demográficas y clínicas

En la semana 8 la dosis media de FLX fue de 22,65mg/día (DS=9,36). Hubo diferencias estadísticamente significativas entre la dosis media de FLX en el sexo masculino con respecto al femenino (18,50 mg/día, DS=1,205 vs. 26,64 mg/día, DS=10,09, respectivamente; $t=-2,757$; $p=0,007$). En la semana 12 la dosis media de FLX fue de 24,85mg/día (DS=12,01).

Se encontró una correlación significativa entre la dosis diaria de FLX por kilogramo de peso corporal y las concentraciones plasmáticas de FLX (semana 8: $r=0,557$, $p=0,000$; semana 12: $r=0,579$, $p=0,000$), de NORFLX (semana 8: $r=0,301$, $p=0,009$; semana 12: $r=0,344$, $p=0,003$), de FLX+NORFLX (semana 8: $r=0,460$, $p=0,000$; semana 12: $r=0,482$, $p=0,000$) y de la ratio de FLX/NORFLX (semana 8: $r=0,600$, $p=0,000$; semana 12: $r=0,523$, $p=0,010$).

Respecto a los diferentes diagnósticos, en la semana 8 no encontramos diferencias entre los diagnósticos de TDM, TOC o TAG y la dosis o las concentraciones plasmáticas de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX, FLX/NORFLX. En la semana 12, encontramos diferencias en cuanto a la dosis de FLX ($F_{(2, 68)} = 5,17$, $p=0,008$). Al realizar comparaciones post-hoc mediante el test de Bonferroni se puso de manifiesto que en los pacientes afectados de TOC ($M=34,00$ mg/día; $DS=15,93$) la media de dosis de FLX media era significativamente mayor con respecto al grupo de pacientes con TDM ($M=22,29$ mg/día; $DS=10,36$; $p=0,006$). La dosis media en el grupo TAG ($M=26,00$ mg/día; $DS=10,36$) no difirió de forma significativa ni de los afectados de TDM ni de los afectados de TOC.

En la tabla 8 se muestran las concentraciones plasmáticas de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX, FLX/NORFLX para todos los pacientes y también en función del sexo y el diagnóstico. Como se muestra en esta tabla existen diferencias estadísticamente significativas entre sexo masculino y femenino.

Las concentraciones plasmáticas de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX, FLX/NORFLX no correlacionaron con la edad de los sujetos.

Tabla 8. Concentraciones plasmáticas de FLX y NORFLX (semanas 8 y 12).

| | Semana 8 | | | | | | | | | | Semana 12 | | | | | | | | | |
|-----------|----------|--------------------|-------|-----------------------|--------|---------------------|--------|------------|------|--------------------|-----------|-----------------------|--------|---------------------|--------|------------|------|--|--|--|
| | N | Fluoxetina (ng/ml) | | Norfluoxetina (ng/ml) | | FLX+NORFLX (ng/ml) | | FLX/NORFLX | | Fluoxetina (ng/ml) | | Norfluoxetina (ng/ml) | | FLX+NORFLX (ng/ml) | | FLX/NORFLX | | | | |
| | | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS | | | |
| Todos | 74 | 95,26 | 84,90 | 113,61 | 87,45 | 207,51 | 158,65 | 0,95 | 0,85 | 129,77 | 135,77 | 132,99 | 98,95 | 262,83 | 217,62 | 1,08 | 0,96 | | | |
| Masculino | 24 | 61,67 ^a | 52,33 | 82,63 ^b | 54,07 | 144,29 ^c | 100,67 | 0,72 | 0,39 | 82,21 ^b | 85,83 | 98,21 ^b | 64,51 | 180,42 ^d | 131,97 | 0,99 | 1,13 | | | |
| Femenino | 50 | 111,38 | 92,93 | 128,48 | 96,56 | 237,86 | 172,75 | 1,05 | 0,98 | 154,24 | 150,24 | 150,74 ^b | 108,92 | 304,91 ^d | 240,83 | 1,12 | 0,87 | | | |
| TDM | 51 | 94,18 | 88,49 | 115,14 | 88,49 | 207,35 | 162,26 | 0,84 | 0,50 | 123,73 | 137,64 | 132,13 | 99,36 | 255,73 | 220,86 | 0,92 | 0,56 | | | |
| TOC | 12 | 88,50 | 60,61 | 100,42 | 60,35 | 188,92 | 107,43 | 1,45 | 1,69 | 148,42 | 133,81 | 134,67 | 99,95 | 283,08 | 217,32 | 1,88 | 1,80 | | | |
| TAG | 11 | 107,64 | 95,89 | 120,91 | 111,29 | 228,55 | 196,19 | 0,89 | 0,70 | 136,82 | 140,19 | 134,91 | 105,50 | 271,73 | 222,37 | 0,92 | 0,68 | | | |

^ap= 0,017; ^bp=0,034; ^cp=0,015; ^dp=0,021

4.1.2- Relación entre la mejoría clínica, dosis y concentraciones plasmáticas

En la tabla 9 se muestran las puntuaciones de los 3 grupos diagnósticos para las diferentes escalas administradas en la evaluación basal y las semanas 8 y 12. Para el total de la muestra no se encontró una correlación significativa entre las concentraciones plasmáticas corregidas de FLX y la mejoría clínica medida con la escala CGI-I en la semana 8 ($r=-0,129$, $p=0,273$) y en la semana 12 ($r=-0,074$, $p=0,547$).

Posteriormente se dividió la muestra en función del diagnóstico. En los pacientes con TDM se encontraron diferencias en cuanto a la dosis de FLX entre respondedores (media 17,33, DS 4,57) y no respondedores al tratamiento (media 22,56, DS 7,62) y valorado con la escala CDI ($t= -2,468$, $p=0,02$) en la semana 8 de tratamiento. Las concentraciones plasmáticas de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX, FLX/NORFLX fueron similares en los respondedores y no respondedores al tratamiento. No se observó en este grupo de pacientes una correlación significativa entre mejoría clínica (medida con el CGI-I) y las concentraciones plasmáticas corregidas de FLX ni en la semana 8 ni tampoco en la semana 12.

En el grupo de pacientes afectados de TOC tampoco encontramos diferencias en las concentraciones plasmáticas de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX, FLX/NORFLX entre los pacientes respondedores y los no respondedores al tratamiento, medido con la escala CYBOCS. Si se encontró que las concentraciones plasmáticas corregidas de FLX en la semana 8 correlacionaban con mejoría clínica valorada mediante la escala CGI-I ($r=-0,563$, $p=0,047$). Estos resultados no se replicaron en la semana 12 ($r=-0,211$, $p= 0,760$).

En pacientes con TAG tampoco encontramos diferencias en las concentraciones plasmáticas de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX, FLX/NORFLX entre los pacientes respondedores y los no respondedores al tratamiento medido con la escala SCARED para niños. Se halló una correlación débil entre las concentraciones plasmáticas corregidas de FLX y la mejoría clínica en la escala CGI-I en la semana 8 ($r= 0,397$, $p= 0,227$).

Tabla 9. Puntuaciones en las distintas escalas evaluación basal, semanas 8 y 12.

| | TDM | | | | | | TOC | | | | | | TAG | | | | | |
|----------|-------|-------|----------|-------|-----------|-------|-------|-------|----------|-------|-----------|-------|-------|-------|----------|-------|-----------|-------|
| | Basal | | Semana 8 | | Semana 12 | | Basal | | Semana 8 | | Semana 12 | | Basal | | Semana 8 | | Semana 12 | |
| | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS | Media | DS |
| CDI | 28,53 | 7,93 | 19,02 | 10,03 | 17,92 | 9,75 | 22,75 | 11,89 | 20,58 | 11,27 | 19,83 | 11,17 | 15,82 | 8,12 | 12,55 | 6,01 | 9,64 | 5,24 |
| OCI/CV | 16,35 | 7,03 | 13,49 | 8,24 | 13,24 | 7,64 | 21,25 | 8,83 | 18,83 | 8,96 | 17,50 | 6,54 | 11,36 | 8,99 | 11,18 | 7,44 | 11,27 | 7,07 |
| Scaredp | 25,73 | 10,96 | 24,80 | 11,47 | 25,68 | 12,49 | 28,50 | 12,36 | 26,00 | 14,41 | 26,00 | 14,42 | 29,55 | 12,78 | 26,73 | 10,04 | 27,27 | 10,62 |
| Scaredc | 35,94 | 13,12 | 33,06 | 15,66 | 30,25 | 14,46 | 35,42 | 17,33 | 31,75 | 17,13 | 32,25 | 16,54 | 31,82 | 7,49 | 24,91 | 10,88 | 24,00 | 12,08 |
| CYBOCS* | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | 28,42 | 5,69 | 19,83 | 7,28 | 21,75 | 4,99 | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- |
| CGI | 4,86 | 0,89 | 3,65 | 0,87 | 3,18 | 0,84 | 4,92 | 0,67 | 4,17 | 0,39 | 3,83 | 0,57 | 4,36 | 0,51 | 3,82 | 0,61 | 3,18 | 0,87 |
| CGI-I | ---- | ---- | 2,84 | 1,06 | 2,71 | 1,22 | ---- | ---- | 3,17 | 0,57 | 3,00 | 1,19 | ---- | ---- | 3,09 | 1,04 | 2,64 | 1,21 |
| CGAS/GAF | 43,35 | 12,74 | 57,45 | 9,57 | 62,37 | 10,04 | 44,33 | 8,87 | 52,67 | 5,77 | 55,17 | 7,93 | 47,36 | 12,06 | 55,55 | 6,87 | 67,36 | 8,09 |
| UKU | ---- | ---- | 1,37 | 2,21 | 1,17 | 1,88 | ---- | ---- | 3,08 | 2,64 | 2,42 | 1,73 | ---- | ---- | 1,55 | 1,91 | 1,36 | 2,01 |

*CYBOCS: sólo administrado en TOC

4.1.3- Relación entre los efectos secundarios y las concentraciones plasmáticas

No se encontró correlación entre las concentraciones plasmáticas corregidas por dosis de FLX y los efectos secundarios al tratamiento (medidos mediante la escala UKU) ni en la semana 8 ($r=0,067$, $p=0,568$) ni en la 12 ($r=0,125$, $p=0,307$). Los efectos secundarios más frecuentes fueron somnolencia (17,6%), astenia (12,2%) e inatención (6,8%).

4.1.4- PDF del artículo 1

“Plasma fluoxetine concentrations and clinical improvement in an adolescent sample diagnosed with major depressive disorder, obsessive-compulsive disorder, or generalized anxiety disorder”. Blázquez A, Mas S, Plana MT, Gassó P, Méndez I, Torra M, Arnaiz JA, Lafuente A, Lázaro L. J Clin Psychopharmacol 2014; 34(3):318-26. FI: 3,761.

ORIGINAL CONTRIBUTION

Plasma Fluoxetine Concentrations and Clinical Improvement in an Adolescent Sample Diagnosed With Major Depressive Disorder, Obsessive-Compulsive Disorder, or Generalized Anxiety Disorder

Ana Blázquez, MD,* Sergi Mas, PhD,†‡§ Maria Teresa Plana, MD,* Patricia Gassó, PhD,†‡§
Iria Méndez, MD,* Mercè Torra, PhD,|| Joan Albert Arnaiz, MD, PhD,†‡¶ Amàlia Lafuente, MD, PhD,†‡§
and Luisa Lázaro, MD, PhD*†§#

Fluoxetine (FLX) has been one of the most widely studied selective serotonin reuptake inhibitors in adolescents. Despite its efficacy, however, 30% to 40% of patients do not respond to treatment.

Aims: The aim of this study was to evaluate whether clinical improvement or adverse events are related to the corrected dose of FLX at 8 and 12 weeks after starting treatment in a sample of adolescents diagnosed with major depressive disorder, obsessive-compulsive disorder, or generalized anxiety disorder.

Methods: Seventy-four subjects aged between 10 and 17 years participated in the study. Clinical improvement was measured with the Clinical Global Impression-Improvement Scale, whereas the UKU (Udvalg for Kliniske Undersøgelser) scale was administered to assess adverse effects of treatment.

Results: Fluoxetine per kilogram of body weight was related to serum concentration of FLX, NORFLX (norfluoxetine), FLX+ NORFLX, and FLX/NORFLX. No relationship was found between dose-corrected FLX levels and therapeutic or adverse effects. No differences in serum concentrations were found between responders and nonresponders to treatment. Sex differences were observed in relation to dose and FLX serum concentration. The analysis by diagnosis revealed differences in FLX dose between obsessive-compulsive disorder patients and both generalized anxiety disorder and major depressive disorder patients.

Conclusions: Fluoxetine response seems to be influenced by factors such as sex, diagnosis, or certain genes that might be involved in the drug's pharmacokinetics and pharmacodynamics. Clinical and pharmacogenetic studies are needed to elucidate further the differences between treatment responders and nonresponders.

Key Words: fluoxetine, plasmatic concentrations, major depressive disorder, obsessive-compulsive disorder, or generalized anxiety disorder

(*J Clin Psychopharmacol* 2014;34: 318–326)

From the *Department of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology, Institute of Neurosciences, Hospital Clínic de Barcelona; †Department of Anatomic Pathology, Pharmacology and Microbiology, University of Barcelona; ‡Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS); §Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM); ¶Pharmacology and Toxicology Department, CIB, Hospital Clínic de Barcelona; ¶Clinical Pharmacology Department, Hospital Clínic de Barcelona; and #Department of Psychiatry and Clinical Psychology, University of Barcelona, Barcelona, Spain.

Received June 13, 2013; accepted after revision December 4, 2013.

Reprints: Ana Blázquez, MD, Department of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology, Institute of Neurosciences, Hospital Clínic de Barcelona, Villarroel 170, Escalera 11 3a planta, 08036 Barcelona, Spain (e-mail: abhinojo@clinic.ub.es).

The study was financially supported by Alicia Koplowitz Foundation, by Instituto Carlos III and FEDER. "Unión Europea. Una manera de hacer Europa" and the support of La Generalitat de Catalunya to the group of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology (2009 SGR 1119).

Copyright © 2014 by Lippincott Williams & Wilkins

ISSN: 0271-0749

DOI: 10.1097/JCP.000000000000021

Adolescents are generally perceived as a healthy age group, although an estimated 10% to 20% of them manifest a psychiatric disorder.¹ Major depressive disorder (MDD) is a common mental health problem in adolescents worldwide, with an estimated 1-year prevalence of 4% to 5% in mid-to-late adolescence.^{2,3} Major depressive disorder in adolescents is a major risk factor for suicide.^{2,4} Obsessive-compulsive disorder (OCD) is also prevalent in childhood (1%–3%). It is a serious problem,⁵ and symptoms may worsen and become very disabling before adequate help is offered.⁵ Anxiety disorders are the most common childhood emotional problems, with lifetime prevalence estimates ranging from 8.3% to 27%.⁶ Among pediatric anxiety diagnoses, generalized anxiety disorder (GAD) is the most common, with an estimated prevalence of 15%.⁷ Generalized anxiety disorder is associated with impairment in educational, family, social, and emotional domains.^{8,9} Controlled clinical trials in youth suggest that selective serotonin reuptake inhibitors are safe and effective for the treatment of MDD, OCD, or GAD.^{4,6,8,10–12} Among selective serotonin reuptake inhibitors, fluoxetine (FLX) has been one of the most widely studied agents in children and adolescents.¹³ Despite its efficacy, however, 30% to 40% of patients do not respond to treatment.^{5,6,14,15}

Fluoxetine is a racemic mixture of 2 equally potent enantiomers, (S)- and (R)-fluoxetine.¹⁶ The difference between the enantiomers is that their metabolite, called norfluoxetine (NORFLX), has 2 enantiomers of different potency [(S)- and (R)-NORFLX], with (S)-NORFLX being 20 times more potent at blocking serotonin reuptake than is the (R)- form.^{17–20} Fluoxetine exhibits nonlinear kinetics, as indicated by a disproportionate increase in its blood concentration after dose escalation. Although blood concentration is not related to adverse effects or clinical improvement,^{16,17,21} determination of plasma FLX concentrations could provide information about variability in clinical response.²²

Previous studies in adult populations have failed to identify a correlation between clinical response and plasma FLX levels.^{22–24} A study by Charlier et al²⁵ found a relationship between oral dose and plasma FLX concentrations. This study was conducted with depressed patients (aged 22–79 years) treated with FLX, venlafaxine, citalopram, paroxetine, or clomipramine. Treatment efficacy was assessed by comparing baseline and hospital discharge status using the Clinical Global Impression-Improvement Scale (CGI-I). Patients were considered to be responders if their CGI-I score at the end of the study period was 1 or 2. With respect to FLX, the authors found a significant correlation between plasma FLX concentration (that ranged from 28 to 300 µg/L) and oral dose (mean, 27.5 mg/dL) in the responders group.²⁵

Information about therapeutic serum levels of FLX in children and adolescents is scarce.⁸ The TORDIA study¹⁵ examined

the relationship between plasma concentration of FLX and both clinical response and adverse effects in treatment-resistant depressed adolescents ($n = 64$). Clinical response was measured by the CGI-I and the Children's Depression Rating Scale-Revised. No association was found between mean plasma concentration at weeks 6 and 12 after starting treatment and clinical response or adverse events. A recent study by Koelch et al²⁶ ($n = 73$) showed that serum concentrations of the active moiety (FLX plus NORFLX) in depressed children and adolescents seem to be similar to those observed in adults. However, no relationship was found between serum concentration and clinical outcome (measured by the CGI-I) or adverse events (measured by the UKU [Udvalg for Kliniske Undersøgelser] scale). Another study carried out in both adolescents and adults (aged 14-70 years) with OCD found no relationship between plasma FLX levels and clinical outcome, as measured by the Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale.²⁷

To date, no studies in child and adolescent populations have examined the relationship between dose-corrected FLX levels (FLX + NORFLX/dose) and clinical improvement or adverse effects. A primary aim of the present study was therefore to evaluate this relationship at 8 and 12 weeks after starting treatment. A further aim was to assess differences in doses, in plasma levels of FLX, NORFLX, FLX + NORFLX, and FLX/NORFLX, and in clinical improvement between responders and nonresponders to treatment in a sample of adolescents diagnosed with MDD, OCD, or GAD. The influence of sex, age, body weight, and diagnosis on plasma levels of FLX, NORFLX, FLX + NORFLX, and FLX/NORFLX was also studied.

METHODS

Subjects

The study was conducted in the Child and Adolescent Psychiatry and Psychology Service of the Institute of Neurosciences at the Hospital Clínic in Barcelona. The period of recruitment ran from June 2011 to May 2013. A total of 103 subjects aged between 10 and 17 years met the inclusion criteria (ie, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition* diagnostic criteria for MDD, OCD, or GAD, as determined by an experienced child psychiatrist from the service). Treatment in each case was decided by the psychiatrist responsible for the patient (following the service protocols and based on certain guidelines),²⁸⁻³² and it was this psychiatrist who invited the adolescent to take part in the study. Exclusion criteria were mental retardation, somatic or neurological diseases, autism, psychotic disorders, and nonwhite ethnicity.¹² Of the 103 patients, the parents of 18 did not sign written informed consent for participation in the study. Eighty-five patients were thus enrolled in the study, but 7 of them discontinued FLX treatment before week 8, and a further 4 were lost to follow-up because of hospitalization in another center during the study period. The final sample therefore comprised 74 patients.

Procedures

Patients and their parents were interviewed at week 0 using the Spanish version³³ of the semistructured diagnostic interview K-SADS-PL (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children—Present and Lifetime Version),³⁴ the purpose being to assess current and past psychopathology. All subjects began FLX treatment at the initial phase of the study (week 0). The dosage schedule was 10 mg/d of FLX for the first week and 20 mg/d for weeks 2 to 8, with the option of increasing to 40 mg/d if there was inadequate clinical

improvement (in the opinion of the usual psychiatrist) and/or taking into account the principal diagnosis (MDD, OCD, or GAD).²⁸⁻³² From week 8 to 12, the dosage was also increased to 60 mg/d in OCD patients if there was no treatment response. Information about treatment response was obtained via different scales, which are described below. Blood samples were drawn in the morning before the first dose of the day (at weeks 8 and 12 after starting treatment). The blood samples collected were centrifuged at 1800g for 10 minutes, and plasma was stored at -20°C until analyzed. Plasma concentrations of FLX and its metabolite, NORFLX, were determined by established high-performance liquid chromatography method.³⁵⁻³⁸

All procedures were approved by the hospital's ethics committee. Written informed consent was obtained from all parents, and verbal informed consent was given by all subjects following explanation of the procedures involved.

Assessment Scales

Information about severity of illness was obtained at week 0 through application of the following instruments: the Children's Depression Inventory (CDI),³⁹ the Obsessive-Compulsive Inventory-Child Version (OCI-CV),⁴⁰ the Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders (SCARED),⁴¹ the Clinical Global Impression-Severity Scale (CGI-S),⁴² and either the Global Assessment of Functioning (GAF) Scale⁴³ or the Children's Global Assessment Scale (CGAS).⁴⁴ In patients with OCD, the Children's Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale (CYBOCS)⁴⁵ was also administered. To assess clinical improvement the CDI, SCARED, OCI-CV, the CGI-I, and GAF/CGAS scales were administered at weeks 8 and 12. Adverse events were assessed using the UKU Side Effects Rating Scale.⁴⁶

The CDI evaluates the presence and severity of specific depressive symptoms in youth. It contains 27 items, each scored from 0 to 2. Depressed children were defined as those with a self-report CDI score of 19 or greater.³⁹

The OCI-CV is a 21-item self-report measure of OCD symptoms for use in youth aged 7 to 17 years. For each item, the child is asked to report the frequency of that emotion or behavior using a 3-point scale (0 = never, 2 = frequently). Scores of 17 or greater are considered as indicating the presence of obsessive and/or compulsive symptoms.⁴⁰

The SCARED is a child and parent 41-item self-report instrument used to screen for childhood anxiety. For each item, the child is asked to report the frequency of that emotion or behavior using a 3-point scale (0 = not true or hardly ever true, 2 = very true or often true). The SCARED yields scores on 5 subscales (somatic problems, general anxiety, separation anxiety, social phobia, and school phobia), and the sum of all item responses gives a total anxiety score. A total anxiety score of 25 or greater serves as a cutoff point for the diagnosis of an anxiety disorder.⁴¹

The CGI-S⁴² assesses the severity of global symptoms on a scale of 1 (normal, not at all ill) to 7 (extremely ill). The CGI-I⁴² assesses the adequacy of clinical response since the start of treatment and is also rated on a 7-point scale, as follows: 1 = very much improved, 2 = much improved, 3 = minimally improved, 4 = no change from baseline, 5 = minimally worse, 6 = much worse, and 7 = very much worse.

The GAF Scale⁴³ and CGAS⁴⁴ are clinician-administered instruments used to assess symptomatic and psychosocial functioning. They are numeric scales with a range of scores from 1 to 100, with scores greater than 70 being considered as in the reference range. In the present study, the CGAS was administered to subjects younger than 12 years.

The CY-BOCS is a clinician-administered, semistructured interview for assessing the severity of obsessive-compulsive symptoms in children. The scale includes a list of subdomains that are used to identify the content of the patient's obsessions and compulsions. These symptoms are then rated on a 5-point scale (0 = no symptoms, 4 = extreme symptoms) covering 5 areas: time spent on the symptoms over the day, interference caused by the symptoms, level of stress, level of resistance, and control. Summing these scales produces scores for the severity of obsessions and compulsions. A total severity score can also be obtained, ranging from 0 to 40, with a higher score indicating greater severity. A total severity score of 16 serves as a cutoff point for the diagnosis of OCD.⁴⁵

The UKU Side Effect Rating Scale⁴⁶ is a clinician-administered instrument designed to assess adverse effects of psychotropic medication.

For the whole of the present sample, clinical improvement was measured by means of the CGI-I. Additional measures of clinical improvement were as follows: in the MDD group, the CDI; in the OCD group, the CY-BOCS; and in the GAD group, the SCARED. In patients with MDD, responders were considered to be those whose CDI scores fell by 50% or more. As we found no published studies about use of the CDI to measure clinical improvement, we took into account other studies that used the Children's Depression Rating Scale-Revised and which considered a decrease of at least 50% in scores as being indicative of clinical improvement.⁴⁷ In patients with OCD, responders were considered as those whose CY-BOCS score fell by at least 25%.⁴⁸⁻⁵⁰ Finally, in patients with GAD, responders were considered to be those for whom the children's score on the SCARED fell by 50% or more.⁵¹

Statistical Analyses

All analyses involved FLX concentrations, NORFLX concentrations, the active moiety (sum of FLX and NORFLX concentrations), the ratio of FLX to NORFLX concentrations (FLX/NORFLX), and the corrected dose (FLX + NORFLX/dose). Spearman rank correlations between clinical efficacy/adverse events and plasma concentrations were calculated to assess more general associations without regard for the type of pattern. Relationships between diagnoses and plasma concentrations among FLX-treated patients at 8 and 12 weeks were investigated by means of analyses of variance, nonlinear modeling, and Spearman rank correlations. The Student *t* test or Spearman rank correlations were used to determine the influence of sex, age, body weight, and diagnosis on plasma concentrations. All tests were 2-tailed, and all statistical analyses were carried out with SPSS 18.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL). The level of statistical significance was set at $P < 0.05$. The minimum sample size had previously been calculated to ensure that the analysis had sufficient statistical power. Therefore, considering an anticipated effect size of 2 (medium), a desired statistical power level of 0.8, 2 variables as predictors, and a probability level of 0.05, the *n* was 44.

RESULTS

Descriptive Characteristics of the Sample

Table 1 shows clinical and demographic features of the sample. At week 8, the mean dose of FLX was 22.65 (SD, 9.36) mg/d. There was a significant difference in the mean dose of FLX between males and females (18.50 [SD, 1.205] mg/d vs 26.64 [SD, 10.09] mg/d, respectively; $t = -2.757$; $P = 0.007$). At week 12, the mean dose of FLX was 24.85 (SD, 12.01) mg/d, and there continued to be a significant difference between males and females.

TABLE 1. Clinical and Demographic Features of the Sample

| | N | % |
|-------------------------------|-------------|-----------|
| Patients | 74 | |
| Sex | | |
| Male | 24 | 32.4 |
| Female | 50 | 67.6 |
| | Mean | SD |
| Age, y | 14.72 | 1.83 |
| Male | 13.83 | 1.95 |
| Female | 15.14 | 1.63 |
| Weight, kg | 54.03 | 14.02 |
| Male | 58.67 | 20.66 |
| Female | 51.79 | 8.76 |
| | n | % |
| Distribution of diagnoses | | |
| MDD | 68.9 | |
| OCD | 16.2 | |
| GAD | 14.9 | |
| Comorbidities | | |
| Male | 16 | 21.6 |
| Panic disorder | 4 | 5.4 |
| Simple phobia | 4 | 5.4 |
| ADHD | 3 | 4.0 |
| Social phobia | 2 | 2.7 |
| Anorexia nervosa | 2 | 2.7 |
| Oppositional defiant disorder | 1 | 1.3 |
| Female | 42 | 56.7 |
| Panic disorder | 10 | 13.5 |
| Simple phobia | 9 | 12.1 |
| Eating disorder NOS | 9 | 12.1 |
| Anorexia | 8 | 10.8 |
| Social phobia | 3 | 4.0 |
| Oppositional defiant disorder | 1 | 1.3 |
| ADHD | 1 | 1.3 |
| Bulimia nervosa | 1 | 1.3 |
| Concomitant medications | 20 | 27.0 |
| Risperidone | 2 | 2.7 |
| Risperidone + lithium | 1 | 1.3 |
| Risperidone + methylphenidate | 1 | 1.3 |
| Risperidone + diazepam | 1 | 1.3 |
| Quetiapine | 3 | 4.0 |
| Aripiprazole + tramadol | 1 | 1.3 |
| Aripiprazole + lornetazepam | 1 | 1.3 |
| Olanzapine | 1 | 1.3 |
| Diazepam | 4 | 5.4 |
| Alprazolam | 2 | 2.7 |
| Dipotassium clonazepam | 2 | 2.7 |
| Methylphenidate | 1 | 1.3 |

ADHD indicates attention-deficit/hyperactivity disorder; NOS, not otherwise specified.

Relationship Between Dose, Serum Concentration, and Clinical Variables

Table 2 shows FLX, NORFLX, FLX + NORFLX, and FLX/NORFLX concentrations for all patients and according to sex and diagnosis. There was a significant correlation between

TABLE 2. Plasma FLX and NORFLX Concentrations at Weeks 8 and 12

| | n | Week 8 | | | | | | Week 12 | | | | | | | | | |
|--------------|----|------------|-------|---------------|--------|------------|--------|------------|------|---------------|--------|------------|--------|--------|--------|------|------|
| | | FLX, ng/mL | | NORFLX, ng/mL | | FLX/NORFLX | | FLX, ng/mL | | NORFLX, ng/mL | | FLX/NORFLX | | | | | |
| | | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | | | | |
| All patients | 74 | 95.26 | 84.90 | 113.61 | 87.45 | 207.51 | 158.65 | 0.95 | 0.85 | 129.77 | 135.77 | 132.99 | 98.95 | 262.83 | 217.62 | 1.08 | 0.96 |
| Male | 24 | 61.67 | 52.33 | 82.63 | 54.07 | 144.29 | 100.67 | 0.72 | 0.39 | 82.21 | 85.83 | 98.21 | 64.51 | 180.42 | 131.97 | 0.99 | 1.13 |
| Female | 50 | 111.38 | 92.93 | 128.48 | 96.56 | 237.86 | 172.75 | 1.05 | 0.98 | 154.24 | 150.24 | 150.74 | 108.92 | 304.91 | 240.83 | 1.12 | 0.87 |
| MDD | 51 | 94.18 | 88.49 | 115.14 | 88.49 | 207.35 | 162.26 | 0.84 | 0.50 | 123.73 | 137.64 | 132.13 | 99.36 | 255.73 | 220.86 | 0.92 | 0.56 |
| OCD | 12 | 88.50 | 60.61 | 100.42 | 60.35 | 188.92 | 107.43 | 1.45 | 1.69 | 148.42 | 133.81 | 134.67 | 99.95 | 283.08 | 217.32 | 1.88 | 1.80 |
| GAD | 11 | 107.64 | 95.89 | 120.91 | 111.29 | 228.55 | 196.19 | 0.89 | 0.70 | 136.82 | 140.19 | 134.91 | 105.50 | 271.73 | 222.37 | 0.92 | 0.68 |

daily dose of FLX per kilogram of body weight at weeks 8 and 12 and serum concentration of FLX (week 8: $r = 0.557$, $P = 0.000$; week 12: $r = 0.579$, $P = 0.000$), serum concentration of NORFLX (week 8: $r = 0.301$, $P = 0.009$; week 12: $r = 0.344$, $P = 0.003$), the active moiety (week 8: $r = 0.460$, $P = 0.000$; week 12: $r = 0.482$, $P = 0.000$), and the FLX/NORFLX ratio (week 8: $r = 0.600$, $P = 0.000$; week 12: $r = 0.523$, $P = 0.010$). However, there was no significant correlation between age and serum concentration of FLX, NORFLX, or active moiety at 8 or 12 weeks. Comparison of mean FLX serum concentrations between males and females revealed significant differences (week 8: mean FLX in males: 61.67 [SD, 52.33] ng/mL, females: 111.38 ng/mL [SD, 92.93] ng/mL [$t = -2.435$, $P = 0.017$, $1 - \beta = 0.745$, $d = 0.659$]; week 12: mean FLX in males: 82.21 ng/mL [SD, 85.83], females: 154.30 ng/mL [SD, 150.24] ng/mL; $t = -2.172$ [$P = 0.033$]) and in mean of NORFLX (week 8: mean NORFLX in males: 82.63 [SD, 54.07] ng/mL, females: 128.48 [SD, 96.56] ng/mL; $t = -2.164$ [$P = 0.034$]; week 12: mean NORFLX in males: 98.21 [SD, 64.52] ng/mL, females: 150.74 [SD, 108.92] ng/mL; $t = -2.172$ [$P = 0.033$]). Sex differences were also found in active moiety (week 8: mean FLX + NORFLX in males: 144.29 [SD, 100.76] ng/mL; females: 237.86 [SD, 172.75] ng/mL; $t = -2.455$; $P = 0.015$; week 12: mean FLX + NORFLX in males: 180.42 [SD, 131.97] ng/mL; females: 304.91 [SD, 240.84] ng/mL; $t = -2.353$; $P = 0.021$). A 1-way between-groups analysis of variance was conducted to explore the relationship between diagnosis and dose, FLX, NORFLX, and FLX + NORFLX plasma concentrations. This analysis was based on scores obtained on the Life Orientation Test, with participants being divided into 3 groups according to their diagnosis (MDD, OCD, and GAD). There were no significant differences in the Life Orientation Test scores of the 3 diagnostic groups at week 8. However, at week 12, a significant difference was found between the diagnostic groups in relation to the dose of FLX ($F_{2,68} = 5.17$, $P = 0.008$). Specifically, post hoc comparisons using the Bonferroni test indicated that the mean dose of FLX for OCD patients (mean, 34.00 [SD, 15.93] mg/d) was significantly higher than that of the MDD group (mean, 22.29 [SD, 10.36] mg/d; $P = 0.006$). Mean dose in the GAD group (mean, 26.00 [SD, 10.36] mg/d) did not differ significantly from that in either the MDD or OCD groups.

Relationship Between Therapeutic Effect and Serum Concentrations

Table 3 shows scores for the 3 diagnostic groups on the CDI, OCI-CV, SCARED (parents [p] and children [c]), CY-BOCS, CGI, and GAF/CGAS at weeks 0, 8, and 12. Scores on the CGI-I and UKU scale at weeks 8 and 12 are also shown. For the sample as a whole, no significant correlation was observed between the dose-corrected FLX levels (FLX + NORFLX/dose) and clinical improvement, as measured by the CGI-I at weeks 8 ($r = -0.129$, $P = 0.273$) and 12 ($r = -0.074$, $P = 0.547$), and the dose-corrected FLX levels (FLX + NORFLX/dose) but was higher in responders at weeks 8 and 12, and these differences were statically significant (at week 8: 59 patients with improvement: mean 10.83 [SD, 7.85], 15 patients without improvement: mean 5.69 [SD, 5.57]; $t = 2.383$, $P = 0.020$; at week 12: 59 with improvement: mean 12.08 [SD, 6.73] degrees, 15 without improvement, mean 6.73 [SD, 5.09]; $t = 3.043$, $P = 0.003$). Clinical improvement was then evaluated according to the 3 diagnoses. In MDD patients, differences in FLX dose were found between responders ($n = 15$) and non-responders ($n = 36$), as measured by the CDI scale at week 8. Mean plasma concentrations for FLX, NORFLX, and FLX + NORFLX were similar among nonresponders and responders at

TABLE 3. Plasma FLX and NORFLX Concentrations at Weeks 8 and 10

| | MDD | | | | | | OCD | | | | | | GAD | | | | | |
|----------|--------|-------|--------|-------|---------|-------|--------|-------|--------|-------|---------|-------|--------|-------|--------|-------|---------|-------|
| | Week 0 | | Week 8 | | Week 12 | | Week 0 | | Week 8 | | Week 12 | | Week 0 | | Week 8 | | Week 12 | |
| | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD | Mean | SD |
| CDI | 28.53 | 7.93 | 19.02 | 10.03 | 17.92 | 9.75 | 22.75 | 11.89 | 20.58 | 11.27 | 19.83 | 11.17 | 15.82 | 8.12 | 12.55 | 6.01 | 9.64 | 5.24 |
| OCV/CV | 16.35 | 7.03 | 13.49 | 8.24 | 13.24 | 7.64 | 21.25 | 8.83 | 18.83 | 8.96 | 17.50 | 6.54 | 11.36 | 8.99 | 11.18 | 7.44 | 11.27 | 7.07 |
| SCARED | 25.73 | 10.96 | 24.80 | 11.47 | 25.68 | 12.49 | 28.50 | 12.36 | 26.00 | 14.41 | 26.00 | 14.42 | 29.55 | 12.78 | 26.73 | 10.04 | 27.27 | 10.62 |
| SCARED* | 35.94 | 13.12 | 33.06 | 15.66 | 30.25 | 14.46 | 35.42 | 17.33 | 31.75 | 17.13 | 32.25 | 16.54 | 31.82 | 7.49 | 24.91 | 10.88 | 24.00 | 12.08 |
| CYBOCS* | — | — | — | — | — | — | 28.42 | 5.69 | 19.83 | 7.28 | 21.75 | 4.99 | — | — | — | — | — | — |
| CGI | 4.86 | 0.89 | 3.65 | 0.87 | 3.18 | 0.84 | 4.92 | 0.67 | 4.17 | 0.39 | 3.83 | 0.57 | 4.36 | 0.51 | 3.82 | 0.61 | 3.18 | 0.87 |
| CGI-I | — | — | 2.84 | 1.06 | 2.71 | 1.22 | — | — | 3.17 | 0.57 | 3.00 | 1.19 | — | — | 3.09 | 1.04 | 2.64 | 1.21 |
| CGAS/GAF | 43.35 | 12.74 | 57.45 | 9.57 | 62.37 | 10.04 | 44.33 | 8.87 | 52.67 | 5.77 | 55.17 | 7.93 | 47.36 | 12.06 | 55.55 | 6.87 | 67.36 | 8.09 |
| UKU | — | — | 1.37 | 2.21 | 1.17 | 1.88 | — | — | 3.08 | 2.64 | 2.42 | 1.73 | — | — | 1.55 | 1.91 | 1.36 | 2.01 |

*CYBOCS: administered only in OCD patients.

weeks 8 and 12 (Table 4). No significant correlation was observed between the dose-corrected FLX levels (FLX + NORFLX/dose) and clinical improvement, as measured by both the CGI-I at weeks 8 ($r = -0.144, P = 0.314$) and 12 ($r = -0.153, P = 0.309$) and by differences in CDI scores (week 8: $r = 0.011, P = 0.938$; week 12: $r = -0.201, P = 0.233$). In OCD patients, mean plasma concentrations for FLX, NORFLX, FLX + NORFLX, and FLX/NORFLX were again similar among nonresponders and responders at weeks 8 and 12 (as measured by the CYBOCS) (Table 5). However, a significant correlation was observed between the dose-corrected FLX levels and clinical improvement at week 8, as measured by the CGI-I ($r = -0.563, P = 0.047$). This correlation was not observed at week 12 ($r = -0.211, P = 0.760$). No significant correlation was observed between the dose-corrected FLX levels and clinical improvement, as measured by both the CYBOCS. In GAD patients, mean plasma concentrations for FLX, NORFLX, FLX + NORFLX, and FLX/NORFLX were similar among nonresponders and responders at weeks 8 and 12 (as measured by children's scores on the SCARED) (Table 6). There was a medium, positive correlation between the dose-corrected FLX levels and clinical improvement, as measured by the CGI-I at weeks 8 ($r = 0.397, P = 0.227$) and 12 ($r = 0.014, P = 0.926$) or by the SCARED.

Relationship Between Adverse Effects and Serum Concentrations

There was no correlation between the dose-corrected FLX levels and adverse effects (as measured by the UKU scale) at weeks 8 ($r = 0.067, P = 0.568$) and 12 ($r = 0.125, P = 0.307$). The most frequent adverse effects were somnolence (17.6%), asthenia (12.2%), and inattention (6.8%).

DISCUSSION

The main finding of this study was that the daily dose of FLX per kilogram of body weight was related to serum concentrations of FLX, NORFLX, FLX + NORFLX, and FLX/NORFLX. No relationship was found between FLX dose and response to treatment or between serum concentrations and clinical improvement.

Fluoxetine doses and the range of active moiety serum concentrations were similar to those reported in previous studies,^{8,26} and they were within the recommended range for adults.²⁷ Serum concentrations of FLX, NORFLX, FLX + NORFLX, and FLX/NORFLX at weeks 8 and 12 were related to the dose of FLX per kilogram of body weight. In the study by Koelch et al,²⁶ the dose per kg was also related to FLX serum concentration, but these authors observed no relationship with respect to NORFLX, the active moiety, or the FLX/NORFLX ratio, this being consistent with the results of Reis et al.²⁷

As regards the rates of responders and nonresponders in MDD, these were similar to those reported in previous studies with adults.^{22,25} These 2 studies, both conducted in MDD patients, found no differences in dose, FLX, NORFLX, FLX + NORFLX, or FLX/NORFLX plasma concentrations between responders and nonresponders to treatment (as measured by the CGI-I or the Hamilton Rating Scale for Depression). Analyzing the same variables in childhood population, no differences were found. However, in OCD patients, the response rate to FLX was overstated. A likely explanation would be that the result was better than expected because of the treatment combination with cognitive-behavioral therapy and the shorter time to disease progression, due to the patients' ages. Moreover, in our study, a corrected dose (FLX + NORFLX/dose) was used to correct dosage variability (from 20 to 60 mg/d). As in previous studies,^{15,26}

TABLE 4. FLX and NORFLX Concentrations for MDD Patients, Classified (by Means of the CDI) as Responders and Nonresponders

| | Week 8 | | | | Week 12 | | | |
|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------------|----------|-----------------|-----------------|-----------------------|----------|
| | Responders (15) | | Nonresponders (36) | | Responders (19) | | Nonresponders (32) | |
| | Mean (SD) | Mean (SD) | <i>r</i> [*] | <i>P</i> | Mean (SD) | Mean (SD) | <i>r</i> [*] | <i>P</i> |
| Dose, mg | 17.33 (4.57) | 22.56 (7.62) | -2.468 | 0.02 | 21.05 (13.70) | 22.50 (7.62) | -0.486 | 0.69 |
| FLX, ng/mL | 76.67 (85.33) | 101.47 (89.94) | -0.911 | 0.37 | 155.41 (188.38) | 106.35 (99.36) | 1.186 | 0.24 |
| NORFLX, ng/mL | 111.60 (95.36) | 116.61 (86.84) | -0.182 | 0.86 | 148.53 (117.29) | 123.13 (88.85) | 0.844 | 0.40 |
| Sum, ng/mL | 188.27 (177.67) | 215.31 (157.37) | -0.538 | 0.59 | 303.94 (289.24) | 229.29 (172.53) | 1.123 | 0.27 |
| Ratio (FLX/NORFLX) | 0.67 (0.28) | 0.91 (0.55) | -1.690 | 0.09 | 0.94 (0.48) | 0.90 (0.61) | 0.259 | 0.78 |

*Student *t* test.

we found no relationship between clinical improvement measured by the CGI-I in the whole sample and the corrected dose. Nevertheless, when the CGI-I was used as an ordinal scale (improvement: score 1, 2, or 3; no improvement: score 4, 5, 6, or 7), the mean corrected dose FLX levels were higher in responders to treatment. No previous studies have compared plasma levels using the CGI-I as an ordinal scale. It would be interesting to consider this possibility in future studies.

No relation between clinical improvement and plasma FLX concentrations has previously been attributed to dose variability¹⁵ or to the fact that the analyses were not performed under steady-state conditions.²⁴ In our study, no relationship was found between treatment response and plasma concentrations, despite the fact that doses were corrected, and analyses were conducted under steady-state conditions. A possible explanation for these findings would involve a role for cytochrome P450 (particularly the CYP2D6 isoenzyme), which is involved in the *N*-demethylation of FLX to NORFLX.²⁰ Because the activity of CYP2D6 is polymorphic,⁵³ and in addition, FLX and NORFLX are potent inhibitors of CYP2D6,^{19,21} interindividual variability of drug and metabolite plasma concentrations might occur during FLX treatment.²⁸ Furthermore, each cytochrome has different allelic variants and shows differences in its function.^{38,54} In this context, it has been suggested that CYP2D6 polymorphisms may contribute to interindividual variability in FLX pharmacokinetics at the steady state.^{38,53-54} These results could suggest that FLX response is influenced by certain genes that are involved in FLX pharmacokinetics and pharmacodynamics.⁵⁵ The main genes studied in relation to FLX pharmacokinetics have been those encoding for CYP2D6 and CYP2C9. In terms of its pharmacodynamics, it is important to

note that FLX specifically inhibits neuronal reuptake of serotonin, thus increasing the concentration of serotonin at the synapse and reinforcing serotonergic neuronal transmission. Consequently, genes associated with serotonin transport, synthesis, modulation, and degradation have been proposed as pharmacogenetic targets.⁵⁶ However, most studies of the pharmacodynamics of antidepressants have been performed in adults. In children, we found 1 study of serotonin transporters and citalopram⁵⁷ and 2 studies of genes associated with serotonin synthesis and degradation.^{57,58} The authors of these studies suggested that allelic variants of certain genes related to serotonin transport or synthesis influenced the response to FLX treatment.^{57,58}

Other factors that could be involved in response variability are sex, age, and diagnosis. In the present study, there were sex differences in dose, FLX and NORFLX serum concentrations, and also in active moiety at weeks 8 and 12. These results are similar to those obtained in an adult sample by Amsterdam et al,²² who found that men had lower FLX, NORFLX, and FLX + NORFLX concentrations. This result was not obtained in previous studies with children and adolescents.^{8,26} Drug metabolism is known to be influenced by sex, and studies have shown that pharmacokinetics is influenced by hormonal changes such as the menstrual cycle, factors such as physical constitution, or differences in the expression of CYP enzymes and glucuronosyltransferases.⁵⁹⁻⁶² We observed no relationship between age and serum concentration of FLX, a result that is in line with the findings obtained by Wilens et al,⁸ who found no age differences when body weight was normalized. With respect to diagnosis, our patients with OCD received a higher FLX dose. This is consistent with previous studies in which OCD

TABLE 5. Plasma FLX and NORFLX Concentrations for OCD Patients, Classified (by Means of the CY-BOCS) as Responders and Nonresponders

| | Week 8 | | | | Week 12 | | | |
|--------------------|-----------------|----------------|-----------------------|----------|-----------------|-----------------|-----------------------|----------|
| | Responders (6) | | Nonresponders (6) | | Responders (6) | | Nonresponders (6) | |
| | Mean (SD) | Mean (SD) | <i>r</i> [*] | <i>P</i> | Mean (SD) | Mean (SD) | <i>r</i> [*] | <i>P</i> |
| Dose, mg | 30.67 (18.83) | 30.00 (10.95) | 0.075 | 0.94 | 29.67 (18.35) | 38.33 (13.29) | -0.937 | 0.37 |
| FLX, ng/mL | 108.00 (73.31) | 69.00 (34.53) | 1.128 | 0.28 | 148.00 (135.28) | 148.83 (145.21) | -0.010 | 0.99 |
| NORFLX, ng/mL | 119.17 (66.25) | 72.40 (53.21) | 1.085 | 0.30 | 110.83 (86.95) | 158.50 (114.26) | -0.813 | 0.43 |
| Sum, ng/mL | 227.17 (127.31) | 150.67 (75.31) | 1.267 | 0.25 | 258.83 (199.43) | 307.33 (250.44) | -0.371 | 0.72 |
| Ratio (FLX/NORFLX) | 1.12 (0.78) | 1.77 (2.32) | -0.647 | 0.53 | 2.69 (2.24) | 1.06 (0.71) | 1.696 | 0.12 |

*Student *t* test.

TABLE 6. Plasma FLX and NORFLX Concentrations for GAD Patients, Classified (on the Basis of SCARED Scores) as Responders and Nonresponders

| | Week 8 | | | | Week 12 | | | |
|--------------------|-----------------|-----------------|-------------------|----------|----------------|------------------|-------------------|----------|
| | Responders (2) | | Nonresponders (9) | | Responders (2) | | Nonresponders (9) | |
| | Mean (SD) | Mean (SD) | <i>t</i> * | <i>P</i> | Mean (SD) | Mean (SD) | <i>t</i> * | <i>P</i> |
| Dose, mg | 20.00 (0.00) | 22.252 (8.33) | -0.362 | 0.73 | 20.00 (0.00) | 27.33 (10.19) | -0.976 | 0.35 |
| FLX, ng/mL | 98.50 (122.33) | 109.67 (97.96) | -0.014 | 0.89 | 13.00 (11.31) | 156.50 (148.57) | -1.456 | 0.18 |
| NORFLX, ng/mL | 121.50 (133.64) | 120.78 (115.11) | 0.008 | 0.99 | 22.00 (18.38) | 160.00 (99.87) | -1.871 | 0.09 |
| Sum, ng/mL | 220.00 (255.97) | 230.44 (199.76) | -0.065 | 0.95 | 35.00 (29.69) | 324.33 (2131.14) | -1.857 | 0.10 |
| Ratio (FLX/NORFLX) | 0.64 (0.28) | 0.95 (0.76) | -0.536 | 0.60 | 0.57 (0.31) | 1.00 (0.73) | -0.780 | 0.45 |

*Student *t* test.

patients also needed higher doses of FLX to achieve clinical improvement.^{5,61} A novel finding of the present study was that, in OCD patients, FLX dose was also shown to be related to clinical improvement at week 8, as measured by the CGI-I. This was not reported in previous studies.²⁷

In line with previous research, no relationship was found between adverse effects and dose-corrected FLX levels. Although FLX is a well-tolerated drug, an important percentage of patients did report minor adverse effects (at 8 weeks, 43.2%; at 12 weeks, 41.9%). It is interesting to note that fewer adverse effects were reported at more weeks of treatment.

Limitations

The main limitation was the small sample size, because of the study design (only white patients who met diagnostic criteria for MDD, OCD, or GAD were included) and the strict criteria for starting antidepressant treatment in childhood. For future studies, a large sample size will be interesting. Another limitation might be the possible interactions between concomitant medication and FLX via CYP2D6 (involved in the metabolism of quetiapine, risperidone, and aripiprazole)²¹ and their effects on the serum concentrations of each drug.

CONCLUSIONS

Plasma FLX levels and active moiety in children are similar to those observed in adults, and they seem to be influenced by sex, but not by age, when the dose is weight corrected. The dose corrected is not related to treatment response or adverse effects. The response to FLX seems to be influenced by certain genes that are involved in the drug's pharmacokinetics and pharmacodynamics. Consequently, clinical and pharmacogenetic studies are needed to elucidate further the differences between treatment responders and nonresponders.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank Ana Meseguer for her help in collecting blood samples.

AUTHOR DISCLOSURE INFORMATION

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

- Navarro-Pastó E, Meléndez-Monjal JC, Sales Galán A, et al. Child and adolescent development: common mental disorders according to age and gender. *Psicothema*. 2012;24(3):377-383.

- March J, Silva S, Curry J, et al. The Treatment for Adolescents With Depression Study (TADS): outcomes over 1 year of naturalistic follow-up. *Am J Psychiatry*. 2009;166:1141-1149.
- Thapar A, Collafaw S, Pine DS, et al. Depression in adolescence. *Lancet*. 2012;379:1056-1067.
- Uusala T, Clavenna A, Zuddas A, et al. Randomised controlled trials of selective serotonin reuptake inhibitors in treating depression in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008;18:62-73.
- Nissen JB, Thomsen PH. Clinicians' views on clinical examination and treatment of children and adolescents with obsessive-compulsive disorder (OCD): A Danish national survey study. *Nord J Psychiatry*. 2008;62(4):309-314.
- Keeton CP, Kolos AC, Walkup JT. Pediatric generalized anxiety disorder: epidemiology, diagnosis and management. *Paediatr Drugs*. 2009;11(3):171-183.
- Costello EJ, Egger HL, Angold A. The development epidemiology of anxiety disorders: phenomenology, prevalence and comorbidity. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*. 2005;14(4):631-648.
- Wilens TE, Cohen L, Biederman J, et al. Fluoxetine pharmacokinetics in pediatric patients. *J Clin Psychopharmacol*. 2002;22(6):568-575.
- Williams TP, Miller BD. Pharmacologic management of anxiety disorders in children and adolescents. *Curr Opin Pediatr*. 2003;15:483-490.
- Storch EA, Larson MJ, Shapiro NA, et al. Clinical predictors of early fluoxetine treatment response in obsessive-compulsive disorder. *Depress Anxiety*. 2006;23:429-433.
- Alaghaand-Rad J, Hakimehshahary M. A randomized controlled clinical trial of citalopram versus fluoxetine in children and adolescents with obsessive-compulsive disorder (OCD). *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2009;18(3):13-15.
- March JS, Vitiello B. Clinical messages from the Treatment for Adolescents With Depression Study (TADS). *Am J Psychiatry*. 2009;166:1118-1123.
- Sakolsky D, Birmaher B. Developmentally informed pharmacotherapy for child and adolescent depressive disorders. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*. 2012;21(2):313-325.
- March J, Silva S, Petrycki S, et al. Fluoxetine, cognitive-behavioral therapy, and their combination for adolescents with depression: Treatment for Adolescents With Depression Study (TADS) randomized controlled trial. *JAMA*. 2004;292(7):807-820.
- Sakolsky DJ, Patel JM, Essauie G, et al. Antidepressant exposure as a predictor of clinical outcomes in the Treatment of Resistant Depression in Adolescents (TORDIA) study. *J Clin Psychopharmacol*. 2011;31:92-97.

16. de Vane CL. Metabolism and pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Cell Mol Neurobiol*. 1999;19(4):443-466.
17. Hienke C, Hittler S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibition. *Pharmacol Ther*. 2000;83(1):11-28.
18. Ring BJ, Eckstein JA, Gillespie JS, et al. Identification of the human cytochromes P450 responsible for in vitro formation of R- and S-norfluoxetine. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001;297:1044-1050.
19. Clauzier C, Boly F, Lhéritiau M, et al. Polymorphisms in the CYP2D6 gene: association with plasma concentrations of fluoxetine and paroxetine. *Ther Drug Monit*. 2003;25:738-742.
20. Spina E, Santoni V, D'Arigo C. Clinically relevant pharmacokinetic drug interactions with second-generation antidepressants: an update. *Clin Ther*. 2008;30(7):1206-1227.
21. Zhou SE. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part II. *Clin Pharmacokinet*. 2009;48(12):761-804.
22. Amsterdam JD, Fawcett J, Quirk FM, et al. Fluoxetine and norfluoxetine plasma concentrations in major depression: a multicenter study. *Am J Psychiatry*. 1997;154:963-969.
23. Bentley CM Jr, Bossonworth JC, Wernicke JF. Fluoxetine: relationships among dose, response, adverse events, and plasma concentrations in the treatment of depression. *Psychopharmacol Bull*. 1990;26:18-24.
24. Noman TR, Gupta RK, Burrows GD, et al. Relationship between antidepressant response and plasma concentration of fluoxetine and norfluoxetine. *Int Clin Pharmacol*. 1993;8:25-29.
25. Clauzier C, Pinto E, Aussais M, et al. Relationship between clinical effects, serum drug concentration, and concurrent drug interactions in depressed patients treated with citalopram, fluoxetine, citalopram, paroxetine or venlafaxine. *Hum Psychopharmacol Clin Exp*. 2000;15:451-459.
26. Koelch M, Pfäzler AK, Kliegl K, et al. Therapeutic drug monitoring of children and adolescents treated with fluoxetine. *Pharmacopsychiatry*. 2012;45:72-76.
27. Kohn LM, Cain JW, Dominguez RA, et al. Are fluoxetine plasma levels related to outcome in obsessive-compulsive disorder? *Am J Psychiatry*. 1996;153:1450-1454.
28. Ministerio de Sanidad y Política Social. Guía de Práctica Clínica sobre la Depresión Mayor en la Infancia y la Adolescencia. Guía de Práctica Clínica (GPC) en el Sistema Nacional de Salud (SNS) 2009. Available at: http://www.guiasalud.gob.es/GPC/GPC_436_depresion_inf_adolesc_recom.pdf. Accessed October 6, 2013.
29. National Institute for Health and Clinical Excellence. Depression in Children and Young People. Clinical Guideline 2005. Available at: <http://www.nice.org.uk/nice/media/live/10970/29856/29856.pdf>. Accessed October 6, 2013.
30. Hughes CW, Emsile GJ, Crismon ML, et al. Texas Children's Medication Algorithm Project: update from Texas Consensus Conference Panel on Medication Treatment of Childhood Major Depressive Disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2007;46:667-686.
31. NICE Clinical Guideline 31. Obsessive Compulsive Disorder. National Institute for Health and Clinical Excellence (NHS) 2005. Available at: <http://www.nice.org.uk/cg31>. Accessed October 6, 2013.
32. Practice parameter for the assessment and treatment of children and adolescents with anxiety disorders. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2007;46(3):267-283.
33. Ufosa RE, Ortiz S, Higuera F, et al. Interrater reliability of the Spanish version of Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children—Present and Lifetime version (K-SADS-PL). *Actas Esp Psiquiatr*. 2006;34(1):36-40.
34. Kaufman J, Birmaher B, Brent D, et al. Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children—Present and Lifetime Version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1997;36:980-988.
35. Llerena A, Dondo P, Bercoz R, et al. Determination of fluoxetine and norfluoxetine in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection in psychiatric patients. *J Chromatogr B Analg Technol Biomed Life Sci*. 2003;783:25-31.
36. Nash JF, Boop RJ, Carmichael RH, et al. Determination of fluoxetine and norfluoxetine in plasma by gas chromatography with electron-capture detection. *Clin Chem*. 1982;28:2100-2102.
37. Januzzi G, Gatti G, Magni P, et al. Plasma concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine: sources of variability and preliminary observations on relations with clinical response. *Ther Drug Monit*. 2002;24:616-627.
38. Scordo MG, Spina E, Dahl M-L, et al. Influence of CYP2C9, 2C19 and D6 Genetic polymorphisms on the Steady-State plasma concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2005;97:296-301.
39. Kovacs M. *Children's Depression Inventory Manual*. New York: Multi-Health Systems; 1992.
40. Foa EB, Coles M, Huppert JD, et al. Development and validation of a child version of the obsessive compulsive inventory. *Behav Ther*. 2010;41:121-132.
41. Birmaher B, Khetarpal S, Brent D, et al. The Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders (SCARED): scale construction and psychometric characteristics. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1997;36:545-553.
42. Gray W. *ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology, Revised*. Bethesda, MD: US Department of Health, Education, and Welfare; 1976.
43. Luborsky L. Clinician's judgments of mental health: a proposed scale. *Arch Gen Psychiatry*. 1962;7:407-417.
44. Shaffer D, Gould MS, Brasic J, et al. A Children's Global Assessment Scale (CGAS). *Arch Gen Psychiatry*. 1983;40:1228-1231.
45. Scabini L, Riddle MA, McSwiggan-Hardin M, et al. Children's Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale: reliability and validity. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1997;36:844-852.
46. Lingaerde G, Ahlborn UG, Bech P, et al. The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr Scand Suppl*. 1987;334:1-100.
47. Brent D, Emsile G, Clarke G, et al. Switching to another SSRI or to venlafaxine with or without cognitive behavioral therapy for adolescents with SSRI-resistant depression: the TOR-DIA randomized controlled trial. *JAMA*. 2008;299(8):901-913.
48. Geller DA, Hong SL, Holligenstein JH, et al. Fluoxetine treatment for obsessive-compulsive disorder in children and adolescents: a placebo-controlled clinical trial. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2001;40:773-779.
49. Riddle MA, Reeve EA, Yaryura-Tobias JA, et al. Fluvoxamine for children and adolescents with obsessive-compulsive disorder: a randomized, controlled, multicenter trial. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2001;40:222-229.
50. Storch EA, Lewis AB, de Nadai AS, et al. Defining treatment response and remission in obsessive-compulsive disorder: a signal detection analysis of the Children's Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2010;49:708-717.
51. Baumgartner JL, Emsile GJ, Crismon ML. Citalopram in children and adolescents with depression or anxiety. *Ann Pharmacother*. 2002;36:1692-1697.
52. Reis M, Aann T, Spigset O, et al. Serum concentrations of antidepressant drugs in a naturalistic setting: compilation based on a large therapeutic drug monitoring database. *Ther Drug Monit*. 2009;31:98-102.

53. Llema A, Donado P, Becerra R, et al. Effect of CYP2D6 and CYP2C9 genotypes on fluoxetine and norfluoxetine plasma concentrations during steady-state conditions. *Eur J Clin Pharmacol*. 2004;59:869–873.
54. Scordo MG, Caputi AP, D'Arrigo C, et al. Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population. *Pharmacol Res*. 2004;50:195–200.
55. Kato M, Serretti A. Review and meta-analysis of antidepressant pharmacogenetic findings in major depressive disorder. *Mol Psychiatry*. 2010;15:473–500.
56. Kroneberg S, Frisch A, Rothberg B, et al. Pharmacogenetics of selective serotonin reuptake inhibitors in pediatric depression and anxiety. *Pharmacogenomics*. 2008;9(11):1725–1736.
57. Eley TC, Sagdas K, Coricso A, et al. Gene-environment interaction analysis of serotonin system markers with adolescent depression. *Mol Psychiatry*. 2004;9:908–915.
58. Harris RZ, Besser LZ, Schwartz JB. Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Drugs*. 1995;50:222–239.
59. Kauluba AD, Nafziger AN. Physiological changes during menstrual cycle and their effects on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Clin Pharmacokinet*. 1998;34:203–218.
60. Meibohm B, Beisele I, Derendorf H. How important are gender differences in pharmacokinetics? *Clin Pharmacokinet*. 2002;41:329–342.
61. Tanaka E. Gender-related differences in pharmacokinetics and their clinical significance. *J Clin Pharm Ther*. 1999;24:339–346.
62. Llema A, Cobaleda I, Martinez C, et al. Interethnic differences in drug metabolism: influence of sex related and environmental factors on debrisoquine hydroxylation phenotype. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 1996;21:129–138.
63. Thomsen PH. Obsessive-compulsive disorder: pharmacological treatment. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2000;9(suppl 1):176–184.

Erratum: Habermann F, Fritzsche J, Fuhlbrück E, et al. Atypical Antipsychotic Drugs and Pregnancy Outcome: A Prospective, Cohort Study

Because of ambiguity in one sentence in the original abstract to this article, an updated abstract for this article is shown below and will appear online (the changes are noted in bold type).

Updated Abstract for “Atypical Antipsychotic Drugs and Pregnancy Outcome: A Prospective, Cohort Study” by Habermann F, Fritzsche J, Fuhlbrück E, et al. (*J Clin Psychopharmacol*. 2013;33:453–462).

Abstract

Women of childbearing age are often affected with psychotic disorders, requiring the use of antipsychotic medication during pregnancy. In the present study, we prospectively followed the pregnancies of 561 women exposed to second-generation antipsychotic agents (SGAs; study cohort) and compared these to 284 pregnant women exposed to first-generation antipsychotic agents (FGAs; comparison cohort I) and to 1122 pregnant women using drugs known as not harmful to the unborn (comparison cohort II). Subjects were enrolled through the Institute's consultation service.

Major malformation rates of SGA exposed were higher compared to comparison cohort II (adjusted odds ratio, 2.17; 95% confidence interval, 1.20–3.91), possibly reflecting a detection bias by **more intensive prenatal and postnatal care leading to a higher detection rate of isolated atrial and ventricular septal defects**. Postnatal disorders occurred significantly more often in infants prenatally exposed to SGAs (15.6%) and FGAs (21.6%) compared to 4.2% of comparison cohort II. Cumulative incidences of elective terminations of pregnancy **for fear of drug risks and severity of the maternal disease** were significantly higher in both the study cohort (17%) and the FGA comparison cohort (21%) compared to comparison cohort II (3%), whereas the rates of spontaneous abortions did not differ. The numbers of stillbirths and neonatal deaths were within the reference range. Preterm births were significantly more common in infants exposed to FGAs.

To conclude, our findings did not reveal a **substantial teratogenic risk for SGAs, making the better studied SGA an alternative to FGA for antipsychotic treatment during pregnancy**. Because neonates exposed to SGAs or FGAs in the last gestational week are at higher risk of postnatal disorders, delivery should be planned in clinics with neonatal intensive care units.

REFERENCE

Habermann F, Fritzsche J, Fuhlbrück E, et al. Atypical antipsychotic drugs and pregnancy outcome: a prospective, cohort study. *J Clin Psychopharmacol*. 2013;33:453–462.

4.1. Estudio II: “Efecto de los genotipos CYP2D6, CYP2C9 y ABCB1 en las concentraciones plasmáticas de fluoxetina y relación con mejoría clínica en niños y adolescentes”

4.2.1- Genotipos

En la tabla 10 se muestran las frecuencias para cada uno de los genotipos considerados. Factores como el sexo, la edad, la dosis de FLX o la co-medicación se distribuyeron por igual en los distintos genotipos del CYP2D6, CYP2C9 y el ABCB1.

Tabla 10. Distribución genotipos.

| Frecuencias genotípicas | N (%) |
|----------------------------|-----------|
| <i>CYP2D6</i> ¹ | |
| PM | 1 (1,2) |
| IM | 26 (31,3) |
| EM | 53 (63,8) |
| UM | 3 (3,6) |
| <i>CYP2C9</i> ² | |
| PM | 5 (6,0) |
| IM | 20 (24,1) |
| EM | 58 (69,8) |
| <i>ABCB1</i> G2677T | |
| GG | 31 (37,3) |
| GT o TT | 52 (62,6) |
| <i>ABCB1</i> C3435T | |
| CC | 20 (24,1) |
| CT o TT | 63 (75,9) |

Abreviaciones: PM metabolizador lento, IM metabolizador intermedio, EM metabolizar rápido, UM metabolizador ultra-rápido. ¹ Genotipos *CYP2D6* incluidos en cada grupo: PM, *4/*5; IM, *1/*3 o *1/*4 o *1/*5 o *1/*6; EM, *1/*1; UM, *1x2/*1). ² Genotipos *CYP2C9* incluidos en cada grupo: PM, *2/*3 o *3/*3; IM, *1/*2 o *1/*3; EM, *1/*1.

La capacidad metabólica se predijo en función del número de alelos activos. En cuanto al *CYP2D6*, encontramos 1 paciente portador de dos alelos inactivos (*CYP2D6**5 y *CYP2D6**4) que fue clasificado como metabolizador lento (PM). Los pacientes portadores de 1 único alelo activo fueron clasificados como metabolizadores intermedios (IM) (*1/*3: n=1; *1/*4: n=23; *1/*5: n=1; *1/*6: n=1). Un total de 53 pacientes fueron clasificados como metabolizadores rápidos (EM: *1/*1) y otros 3 pacientes como ultrarrápidos (UM) (*CYP2D6* (*1/*1x2)). Respecto al *CYP2C9*, 5 pacientes eran portadores de dos alelos defectuosos (*2/*3: n=3; *3*3:

n=2) y fueron clasificados como PM. Un total de 20 pacientes portaban 1 alelo defectuoso y se clasificaron como IM (*1/*2 o *1/*3). Finalmente, 58 pacientes fueron identificados como EM (*1/*1).

4.2.2- Concentraciones plasmáticas de FLX y NORFLX

Una vez corregidas las concentraciones plasmáticas de FLX, (S)-NORFLX y de FLX+(S)-NORFLX por la dosis, se siguió observando una gran variabilidad inter individual (tabla 11). Se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre el peso corporal y las concentraciones plasmáticas corregidas por la dosis de las diferentes variables farmacocinéticas consideradas, siendo la FLX la que mostró la correlación más significativa (r: -0,360; P=0,001).

4.2.3-Concentraciones plasmáticas y relación con los genotipos CYP2D6, CYP2C9 y el ABCB1

No se evidenciaron diferencias en el peso corporal entre los distintos genotipos del *CYP2D6*, *CYP2C9* o el *ABCB1*. Los valores de los niveles plasmáticos corregidos por dosis de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX y FLX/NORFLX en los distintos genotipos se comparan también en la tabla 8. En las semanas 8 y 12 se halló una asociación significativa entre la ratio FLX (S)/NORFLX y el genotipo *CYP2D6* (p=0,001). En comparación con los UM, la ratio fue 2 veces mayor en los EM, 3 veces mayor en los IM y 5 veces mayor en los PM. La ratio FLX (S)/NORFLX correlacionó de forma negativa con el número de alelos activos del *CYP2D6* (r: -4,53; p<0,001). Para los distintos genotipos del *CYP2C9* y del *ABCB1* no encontramos diferencias (tabla 11).

4.2.4- CYP2D6, CYP2C9 y el ABCB1 y mejoría clínica

Las puntuaciones obtenidas en la escala CGI-I en las semanas 8 y 12 se utilizaron para medir la respuesta clínica a FLX. La mejoría clínica también se evaluó calculando las diferencias entre las puntuaciones basales de las escalas CDI, OCI-CV, SCARED, CGI-S y GAF/CGAS y las obtenidas después de las 8 y 12 semanas de tratamiento. Encontramos correlaciones significativas entre las puntuaciones basales y la respuesta clínica, de manera que los pacientes con peores puntuaciones basales tenían una mejor respuesta clínica. No obstante, no hubo diferencias en cuanto a las puntuaciones basales y los distintos grupos de genotipos que se tuvieron en cuenta en el análisis. Los resultados del estudio mostraron una correlación

estadísticamente significativa entre el polimorfismo G2677T del *ABCB1* y la mejoría clínica en pacientes tratados con FLX. Los pacientes portadores del alelo minoritario T mostraron una mayor reducción en la puntuación de las escalas CDI, OCI-CV, SCARED y CGI-S, así como un incremento mayor en la puntuación de la escala GAF/CGAS, y una puntuación más baja en la escala CGI-I. A las 8 semanas de tratamiento los portadores del alelo T mostraron mayor mejoría en las escalas CDI ($p=0,03$), OCI-CV ($p=0,001$) y CGI-I ($p<0,001$). A las 12 semanas, estos pacientes también presentaron una mayor mejoría en las escalas OCI-CV ($p=0,01$) y SCARED ($p=0,006$). Respecto al polimorfismo C3435T del *ABCB1*, los portadores del alelo T también presentaron una mejor puntuación en la escala CGI-I después de 8 semanas de tratamiento con fluoxetina ($p=0,03$). El análisis haplotípico de los dos polimorfismos del *ABCB1* no mostró asociaciones más fuertes que las observadas únicamente con el SNP G2677T. En cuanto a los citocromos, no se encontraron diferencias significativas en la respuesta al tratamiento entre los diferentes genotipos del *CY2D6* y *CYP2C9* analizados.

Tabla 11. Genotipos versus dosis corregidas semanas 8 y 12.

| Genotipos | Semana 8 | | | | Semana 12 | | | |
|---------------------------|-------------------|--------------------------|------------------|------------------------------|-------------------|--------------------------|------------------|------------------------------|
| | D/C de Fluoxetina | D/C de (S)-Norfluoxetina | D/C FLX+ NOR FLX | Fluoxetina/(S)-Norfluoxetina | D/C de Fluoxetina | D/C de (S)-Norfluoxetina | D/C FLX+ NOR FLX | Fluoxetina/(S)-Norfluoxetina |
| CYP2D6² | | | | | | | | |
| PM | 3,3 | 2,6 | 8,2 | 2,1* | 12,7 | 4,3 | 17,1 | 2,9* |
| IM | 3,9±4,6 | 3,9±6,1 | 11,6±9,3 | 1,2±0,7* | 3,6±4,0 | 3,3±3,9 | 10,9±7,3 | 1,4±1,1* |
| EM | 3,8±3,2 | 3,8±4,4 | 9,7±7,3 | 0,8±0,8* | 4,8±3,4 | 6,3±3,9 | 11,3±6,6 | 0,8±0,4* |
| UM | 3,4±1,4 | 8,3±2,3 | 11,9±3,8 | 0,4±0,1* | 4,2±2,7 | 9,6±4,1 | 13,9±6,8 | 0,4±0,1* |
| CYP2C9² | | | | | | | | |
| PM | 4,3±2,7 | 3,3±2,0 | 9,8±4,2 | 0,7±0,4 | 3,9±2,7 | 7,0±2,0 | 12,9±3,4 | 0,8±0,3 |
| IM | 3,3±2,8 | 4,0±2,7 | 7,3±3,1 | 0,9±0,3 | 4,6±3,8 | 4,9±3,1 | 9,6±3,7 | 1,1±0,8 |
| EM | 4,7±4,0 | 6,6±3,3 | 11,3±8,7 | 0,9±0,9 | 3,2±3,7 | 6,6±4,2 | 11,9±7,2 | 0,9±0,8 |
| AECB1G2577T | | | | | | | | |
| GG | 3,6±2,7 | 3,7±4,0 | 9,2±6,0 | 0,9±1,2 | 3,8±2,6 | 3,7±3,8 | 9,6±3,8 | 0,8±0,6 |
| GT or TT | 4,9±4,1 | 6,0±3,3 | 10,9±8,7 | 0,9±0,3 | 3,8±3,9 | 6,3±4,1 | 12,4±7,0 | 1,0±0,8 |
| AECB1C3433T | | | | | | | | |
| CC | 4,3±2,6 | 7,4±3,3 | 11,6±9,9 | 0,7±0,4 | 4,3±2,2 | 7,3±4,1 | 11,8±3,7 | 0,7±0,4 |
| CT or TT | 4,4±3,9 | 3,3±4,9 | 9,9±8,2 | 1,0±0,9 | 3,3±4,0 | 6,0±3,9 | 11,2±7,0 | 1,0±0,8 |

± D/C dosis corregida

*Test de Kruskal-Wallis, p=0,001. Abreviaciones: PM metabolizador lento, IM metabolizador intermedio, EM metabolizador rápido, UM metabolizador ultra-rápido. ¹ Genotipos CYP2D6 incluidos en cada grupo: PM, *4/*5; IM, *1/*3 o *1/*4 o *1/*5 o *1/*6; EM, *1/*1; UM, *1x2/*1. ² Genotipos CYP2C9 incluidos en cada grupo: PM, *2/*3 o *3/*3; IM, *1/*2 o *1/*3; EM, *1/*1.

4.2.5- PDF del artículo 2: "Effect of CYP2D6, CYP2C9 and ABCB1 genotypes on fluoxetine plasma concentrations and clinical improvement in children and adolescent patients".

Pharmacogenomics J 2014; 14(5):457-62. doi: 10.1038/tpj.2014.12. FI: 5,513.

The Pharmacogenomics Journal (2014), 1–6
© 2014 Macmillan Publishers Limited. All rights reserved 1470-269X/14
www.nature.com/tpj



ORIGINAL ARTICLE

Effect of *CYP2D6*, *CYP2C9* and *ABCB1* genotypes on fluoxetine plasma concentrations and clinical improvement in children and adolescent patients

P Gassó^{1,2}, N Rodríguez¹, S Mas^{1,2,3}, M Págerols¹, A Blázquez⁴, MT Plana⁴, M Torra⁵, L Lázaro^{2,3,4,6} and A Lafuente^{1,2,3}

There is little known about pharmacogenetic of fluoxetine in children and adolescents. In this study, we evaluate, for the first time, the influence of *CYP2D6*, *CYP2C9* and *ABCB1* genotypes on the steady-state plasma concentrations of fluoxetine and its active metabolite (S)-norfluoxetine, and on the clinical improvement in children and adolescent patients receiving fluoxetine treatment. The assessment was performed in 83 patients after 8 and 12 weeks of treatment. Fluoxetine/(S)-norfluoxetine ratio was negatively correlated with the number of active *CYP2D6* alleles ($r = -0.45$; $P < 0.001$). Regarding the G2677T *ABCB1* polymorphism, T allele carriers showed significantly higher improvements on the majority of scales including the Clinical Global Impression-Improvement scale ($P < 0.001$). Our results confirm the influence of *CYP2D6* genetic variants in fluoxetine pharmacokinetics and provide evidence for the potential effect of the *ABCB1* genotype on the clinical improvement in children and adolescent patients treated with fluoxetine.

The Pharmacogenomics Journal advance online publication, 25 March 2014; doi:10.1038/tpj.2014.12

INTRODUCTION

Selective serotonin reuptake inhibitors are widely used to treat several psychiatric disorders. Their safety and effectiveness in treating major depressive disorder, obsessive-compulsive disorder and generalized anxiety disorder have been demonstrated in young populations.^{1–3} Among selective serotonin reuptake inhibitors, fluoxetine is one of the most frequently used agents in children and adolescents, but despite its efficacy 30–40% of patients do not respond to treatment. There is high inter-individual variability both in plasma concentrations and in pharmacological response to fluoxetine, probably due in part to genetic polymorphisms present in the genes related to the pharmacokinetics of this antidepressant.⁴

Fluoxetine is a racemic mixture of two approximately equipotent enantiomers, (S)- and (R)-fluoxetine,⁵ which are metabolized to norfluoxetine by different isoenzymes of the cytochrome P450, especially by *CYP2D6* and *CYP2C9*. Unlike the parent compound, the enantiomers of norfluoxetine present marked differences in pharmacological activity. (S)-norfluoxetine is about 20 times more potent in blocking serotonin reuptake than the (R)- form.^{5,7} Numerous allele variants, deletions and duplications have been identified in *CYP2D6*, which lead to absent, reduced or increased enzyme activity (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>). In particular, the allele variants *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *CYP2D6*5* (consisting of a complete gene deletion) and *CYP2D6*6* cause the loss of enzyme activity and are responsible for poor metabolizing capacity in approximately 99% of Caucasians.⁸ On the basis of the presence of these alleles, individuals are typically classified as poor metabolizers (PMs), those with no active alleles; intermediate metabolizers (IMs), individuals with only one active

allele; or extensive metabolizers (EMs), those with two active alleles. Moreover, ultrarapid metabolizers (UMs), individuals with more than two active copies of the gene (*CYP2D6*1xN*), are also relatively frequent in the population. Regarding *CYP2C9*, two major variants, *CYP2C9*2* and *CYP2C9*3*, have been well characterized in Caucasian populations and code for enzymes with approximately 12% and 5%, respectively, of the normal activity of this cytochrome.^{9,10}

Besides its metabolism, variability in the transportation of fluoxetine may have an effect on plasma concentration and pharmacological response. P-glycoprotein (P-gp) is a plasma membrane transporter that has a critical role in the regulation of the blood–brain barrier transportation of many drugs, including antidepressants.^{11–13} This adenosine triphosphate-binding transporter protein is encoded by the *ABCB1* gene. Two polymorphisms, one non-synonymous single-nucleotide polymorphism (G2677T or rs2032582) and one synonymous single-nucleotide polymorphism (C3435T or rs1045642), have been associated with altered P-gp activity.^{14,15}

Some studies have analyzed the effect of *CYP2D6* and *CYP2C9* polymorphisms on fluoxetine plasma levels and fluoxetine response in adults.^{16–18} As far as *ABCB1* polymorphisms are concerned, very few studies have evaluated their effect on fluoxetine response,^{19,20} and none have investigated the impact in children and adolescent patients. The aim of this study was to evaluate the influence of *CYP2D6*, *CYP2C9* and *ABCB1* genotypes on the steady-state plasma concentrations of fluoxetine and its active metabolite (S)-norfluoxetine, and on the clinical improvement in children and adolescent patients receiving fluoxetine treatment.

¹Department of Anatomic Pathology, Pharmacology and Microbiology, University of Barcelona, Barcelona, Spain; ²Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain; ³Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Barcelona, Spain; ⁴Department of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology, Institute of Neurosciences Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain; ⁵Pharmacology and Toxicology Department, CIB, Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain and ⁶Department of Psychiatry and Clinical Psychobiology, University of Barcelona, Barcelona, Spain. Correspondence: Dr A Lafuente, Department of Anatomic Pathology, Pharmacology and Microbiology, University of Barcelona, IDIBAPS, Casanova 143, Barcelona E-08036, Spain. E-mail: am.lafuente@ub.edu

Received 7 November 2013; revised 24 January 2014; accepted 31 January 2014

MATERIALS AND METHODS

Subjects and sampling procedures

Eighty-three children and adolescents aged between 10 and 17 years receiving fluoxetine treatment were recruited. Patients were diagnosed with major depression disorder, obsessive-compulsive disorder or generalized anxiety disorder according to Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-IV.²¹ The study was conducted at the Child and Adolescent Psychiatry and Psychology Service of the Institute of Neuroscience at the Hospital Clinic in Barcelona. Exclusion criteria were mental retardation, somatic or neurological diseases, autism, psychotic disorders, and non-Caucasian ethnicity. All subjects began fluoxetine treatment in the initial phase of the study. Some patients were temporarily co-medicated with antipsychotics, mood stabilizers or benzodiazepines. After reaching steady-state conditions, blood samples were obtained for drug plasma levels quantification after 8 and 12 weeks of treatment. An extra blood sample was collected for the CYP2D6, CYP2C9 and ABCB1 genotyping. All procedures were approved by the hospital's ethics committee. Written informed consent was obtained from all parents and verbal informed consent was given by all subjects following explanation of the procedures involved.

Experimental procedures

Genomic DNA was isolated automatically from 500 µl of whole blood using MagNA Pure LC 2.0 system (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Quantity and quality of DNA were measured spectrophotometrically using a NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Surrey, UK). Genotyping was performed using the predesigned TaqMan Drug Metabolism Genotyping Assay for CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP2D6*6, CYP2C9*2 and CYP2C9*3 polymorphisms, TaqMan Copy Number Assays for CYP2D6 copy number variations (CYP2D6*5 and CYP2D6*1xN) and the TaqMan allelic discrimination predesigned assay for ABCB1 polymorphisms (rs2032582 and rs1045642) on a 7500 Real-Time PCR System according to the manufacturer's guidelines (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Plasma concentrations of fluoxetine and its metabolite, (S)-norfluoxetine, were measured by a validated high-performance liquid chromatography method described previously.²²

Clinical improvement assessment

Information on illness severity was obtained in the initial phase of the study through the assessment of the following scales: the Children's Depression Inventory (CDI),²³ the Obsessive Compulsive Inventory-Child Version (OCI-CV),²⁴ the Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders (SCARED),²⁵ the Clinical Global Impression-Severity (CGI-S) scale,²⁶ and either the Global Assessment of Functioning (GAF)²⁷ scale or the Children's Global Assessment Scale (CGAS).²⁸ In order to assess clinical improvement, CDI, SCARED, OCI-CV, the Clinical Global Impression-Improvement (CGI-I) scale and GAF/CGAS scales were administered at weeks 8 and 12.

The CDI evaluates the presence and severity of specific depressive symptoms in youth. It contains 27 items, each scored from 0 to 2. Depressed children were defined as those with a self-report CDI score ≥ 19 .²³

The OCI-CV is a 21-item self-report measure of obsessive and/or compulsive symptoms for use in youth aged 7–17 years. For each item, the child is asked to report the frequency of the emotion or behavior on a three-point scale (0 – never, 2 – frequently). Scores ≥ 17 are considered as indicating the presence of obsessive and/or compulsive symptoms.²⁴

The SCARED is a 41-item self-report instrument used to screen for childhood anxiety. For each item, the child is asked to report the frequency of the emotion or behavior using a three-point scale (0 – not true or hardly ever true, 2 – very true or often true). The SCARED yields scores on five subscales (somatic problems, general anxiety, separation anxiety, social phobia and school phobia), and the sum of all item responses gives a total anxiety score. A total anxiety score ≥ 25 serves as a cutoff point for the diagnosis of an anxiety disorder.²⁵

The CGI-S scale²⁶ assesses the severity of global symptomatology on a scale of 1 (normal, not at all ill) to 7 (extremely ill). The CGI-I²⁶ scale assesses the adequacy of clinical response since the start of treatment and is also rated on a seven-point scale, as follows: 1 – very much improved, 2 – much improved, 3 – minimally improved, 4 – no change from baseline, 5 – minimally worse, 6 – much worse and 7 – very much worse.

The GAF scale²⁷ and the CGAS²⁸ are clinician-administered instruments used to assess symptomatic and psychosocial functioning. They are numerical scales with a range of scores from 1 to 100, with scores above 70

being considered as in the normal range. In this study, the CGAS was administered to subjects under 12 years of age.

Statistical analysis

Data were analyzed using IBM SPSS statistics 20 (IBM Corp., Chicago, IL, USA). Depending on the distribution and scales of the variables, non-parametric Mann-Whitney *U*-test, non-parametric Kruskal-Wallis test for multiple comparisons and Spearman's correlations were used for statistical analyses. The haplotype analysis was performed using the SNPAssoc R package (www-project.org). Statistical significance was set at $P < 0.05$.

RESULTS

Demographic, clinical and genotype data are shown in Table 1. The majority of the recruited patients were female (68.7%) and were diagnosed with major depressive disorder (68.7%). The mean baseline score obtained in the scales was high for the CDI, OCI-CV, SCARED and CGI-S and low for the GAF/CGAS, in accordance with

Table 1. Baseline characteristics of the study population

| Demographic, clinical and genotype features | Patients (N = 83) |
|--|-------------------|
| Male gender, N (%) | 26 (31.3) |
| Age (years, mean \pm s.d.) | 14.7 \pm 1.7 |
| Weight (kg, mean \pm s.d.) | 53.4 \pm 13.1 |
| Fluoxetine dose (mg day ⁻¹ , mean \pm s.d.) | |
| Week 8 | 22.9 \pm 9.3 |
| Week 12 | 25.2 \pm 11.9 |
| Co-medication, N (%) | |
| Antipsychotics | 13 (15.6) |
| Mood stabilizers | 2 (2.4) |
| Benzodiazepines | 11 (13.2) |
| Baseline scale scores (mean \pm s.d.) | |
| CDI | 26.1 \pm 9.7 |
| OCI-CV | 16.2 \pm 7.9 |
| SCARED | 34.5 \pm 13.4 |
| CGI-S | 4.8 \pm 0.8 |
| GAF/CGAS | 44.6 \pm 11.7 |
| Genotype frequencies, N (%) | |
| CYP2D6 ^a | |
| PM | 1 (1.2) |
| IM | 26 (31.3) |
| EM | 53 (63.8) |
| UM | 3 (3.6) |
| CYP2C9 ^b | |
| PM | 5 (6.0) |
| IM | 20 (24.1) |
| EM | 58 (69.8) |
| ABCB1 G2677T | |
| GG | 31 (37.3) |
| GT or TT | 52 (62.6) |
| ABCB1 C3435T | |
| CC | 20 (24.1) |
| CT or TT | 63 (75.9) |

Abbreviations: CDI, Children's Depression Inventory; CGI-S, Clinical Global Impression-Severity; EM, extensive metabolizer; GAF/CGAS, Global Assessment of Functioning/Children's Global Assessment Scale; IM, intermediate metabolizer; OCI-CV, Obsessive Compulsive Inventory-Child Version; PM, poor metabolizer; SCARED, Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders; UM, ultrarapid metabolizer. ^aCYP2D6 genotypes included in each group: PM, *4/*5; IM, *1/*3 or *1/*4 or *1/*5 or *1/*6; EM, *1/*1; UM, *1/*1 x 2. ^bCYP2C9 genotypes included in each group: PM, *2/*3 or *3/*3; IM, *1/*2 or *1/*3; EM, *1/*1.

the pathological condition of patients. There were no differences in the mean fluoxetine dose administered at the weeks 8 and 12 (22.9 and 25.2 mg day⁻¹, respectively). Some patients could also have been co-medicated with antipsychotics, mood stabilizers or benzodiazepines during the fluoxetine treatment. Factors such as gender, age, fluoxetine dose or co-medication were distributed equally among the CYP2D6, CYP2C9 and ABCB1 genotype groups analyzed.

Patients' CYP2D6 metabolic capacity was predicted on the basis of the number of active alleles. One patient carried a gene deletion (CYP2D6*5 allele) and the CYP2D6*4 allele, and so was classified as a PM. Patients carrying one active allele (*1/*3; *n* = 1; *1/*4; *n* = 23; *1/*5; *n* = 1; *1/*6; *n* = 1) were classified as IM. Fifty-four patients were classified as EM (*1/*1). Three UM carried three active copies of the CYP2D6 (*1/*1 × 2). Given that there was only one patient who was CYP2D6 PM, the CYP2D6 PM and IM subjects were considered together in the same group in the statistical analysis. In the case of CYP2C9, three metabolic profiles were considered based on the number of active allelic variants. Five patients were classified as PM, with two defective alleles (*2/*3; *n* = 3; *3/*3; *n* = 2). Twenty patients carried one defective allele and were classified as IM (*1/*2 or *1/*3). No defective alleles were detected in 58 patients identified as EM (*1/*1).

Even after correcting the plasma concentrations of fluoxetine, (S)-norfluoxetine and active moiety (fluoxetine plus (S)-norfluoxetine) by dose, there was a great inter-individual variability in all pharmacokinetic variables analyzed. This is shown in Table 2 by the wide range of values (from 30- to 160-fold) obtained for dose-corrected plasma concentrations of fluoxetine, (S)-norfluoxetine, active moiety and fluoxetine/(S)-norfluoxetine ratio.

Statistically significant correlations were found between body weight and dose-corrected plasma concentrations of these pharmacokinetic variables, reaching the most significant correlation with dose-corrected plasma concentration of fluoxetine (*r* = -0.360; *P* = 0.001). However, no differences in body weight were found between any of the CYP2D6, CYP2C9 and ABCB1 genotype groups considered in the analysis. No association with other factors such as gender, age or co-medication was found.

Values of dose-corrected plasma concentrations of fluoxetine, (S)-norfluoxetine, active moiety and fluoxetine/(S)-norfluoxetine ratio at weeks 8 and 12 were compared between CYP2D6, CYP2C9 and ABCB1 genotype groups (Table 2). A significant association was found between the fluoxetine/(S)-norfluoxetine ratio and the CYP2D6 genotype groups considered (*P* < 0.001) at both weeks 8 and 12. Compared with the UM, the ratio was twofold higher in EM, threefold higher in IM and more than fivefold higher in the patient with poor predicted CYP2D6 metabolic capacity. Fluoxetine/(S)-norfluoxetine ratio was negatively correlated with the number of active CYP2D6 alleles (*r* = -0.450; *P* < 0.001). The median values of all the pharmacokinetic variables analyzed were similar in the CYP2C9 genotype groups (Table 2). However, a possible enhanced effect of CYP2D6 genotype by CYP2C9 genotype on these variables was also evaluated by considering patients who were PM or IM for both cytochromes as a group. The fluoxetine/(S)-norfluoxetine ratio was again the only factor associated. However, values of the ratios in these patients were not significantly higher than those obtained in patients who were PM or IM only for CYP2D6. Regarding the ABCB1 genotypes, no association was found with any of the pharmacokinetic variables analyzed.

Scores obtained on the CGI-H scale at weeks 8 and 12 were used to assess clinical response to fluoxetine. Moreover, differences in CDI, OCI-CV, SCARED, CGI-5 and GAF/CGAS scales between baseline scores and scores obtained after 8 and 12 weeks of fluoxetine treatment were calculated to evaluate the clinical improvement. We found significant correlations between baseline scores on the scales and response (data not shown): patients with worse baseline scores tended to have a better response. However, there were no differences in baseline scores between any of the CYP2D6, CYP2C9 and ABCB1 genotype groups considered in the analysis. A significant association was found between the G2677T ABCB1 polymorphism and clinical improvement after treatment with fluoxetine. Carriers of the T allele showed higher decreases in scores on the CDI, OCI-CV, SCARED and CGI-5 scales, higher increases in scores obtained on the GAF/CGAS scale and higher CGI-H scores. Significant results were obtained for many of these

Table 2. Dose-corrected plasma concentrations of fluoxetine, (S)-norfluoxetine, active moiety and fluoxetine/(S)-norfluoxetine ratio among CYP2D6, CYP2C9 and ABCB1 genotypes

| Genotype groups | Week 8 | | | | Week 12 | | | |
|---------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|------------------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|------------------------------------|
| | C/D of fluoxetine | C/D of (S)-norfluoxetine | C/D active moiety | Fluoxetine/(S)-norfluoxetine ratio | C/D of fluoxetine | C/D of (S)-norfluoxetine | C/D active moiety | Fluoxetine/(S)-norfluoxetine ratio |
| CYP2D6¹ | | | | | | | | |
| PM or IM | 5.6 (1.1–8.0) | 4.9 (1.1–6.7) | 11.5 (2.8–16.1) | 1.1 (0.8–2.0) ^a | 6.0 (1.9–9.5) | 4.5 (2.8–7.3) | 12.5 (5.6–16.2) | 1.0 (0.8–1.8) ^a |
| EM | 2.8 (1.6–5.8) | 5.1 (1.7–8.2) | 8.8 (3.3–13.7) | 0.6 (0.5–0.9) ^a | 4.2 (2.0–7.3) | 5.7 (3.0–9.3) | 11.7 (4.9–16.7) | 0.7 (0.5–1.0) ^a |
| UM | 3.8 (1.9–4.6) | 9.6 (5.6–10.3) | 14.1 (7.5–14.2) | 0.4 (0.3–0.5) ^a | 4.4 (1.4–6.9) | 8.9 (5.9–14.1) | 13.3 (7.3–21.0) | 0.5 (0.2–0.5) ^a |
| CYP2C9² | | | | | | | | |
| PM | 3.7 (1.8–7.0) | 6.4 (3.4–7.2) | 8.3 (6.1–14.2) | 0.8 (0.4–1.1) | 7.2 (3.2–7.4) | 7.1 (5.0–8.7) | 13.1 (9.6–16.1) | 0.8 (0.4–1.3) |
| IM | 3.9 (0.8–5.6) | 4.6 (1.3–6.7) | 8.2 (2.4–11.3) | 0.7 (0.5–1.2) | 3.4 (1.6–6.9) | 4.9 (2.4–6.7) | 8.7 (4.1–15.4) | 0.8 (0.6–1.1) |
| EM | 4.5 (1.6–7.0) | 5.5 (1.8–9.1) | 10.7 (3.9–15.7) | 0.7 (0.5–1.0) | 5.2 (2.0–7.3) | 6.0 (3.3–9.7) | 12.2 (5.6–18.0) | 0.8 (0.5–1.1) |
| ABCB1 G2677T | | | | | | | | |
| GG | 2.5 (1.2–5.6) | 5.5 (1.5–8.1) | 9.0 (2.6–13.6) | 0.5 (0.4–1.0) | 2.8 (1.8–5.9) | 5.4 (2.4–8.7) | 8.4 (4.4–14.0) | 0.6 (0.4–1.0) |
| GT or TT | 4.5 (1.6–6.2) | 5.1 (1.7–8.1) | 10.7 (3.6–14.7) | 0.8 (0.5–1.1) | 5.9 (1.9–8.5) | 6.0 (3.7–9.3) | 13.8 (5.6–17.5) | 0.8 (0.6–1.2) |
| ABCB1 C3435T | | | | | | | | |
| CC | 4.7 (1.8–6.6) | 7.3 (3.8–9.1) | 11.8 (7.3–14.8) | 0.5 (0.5–0.8) | 5.1 (2.5–6.3) | 7.0 (4.2–10.3) | 13.1 (7.3–16.2) | 0.6 (0.4–0.8) |
| CT or TT | 3.3 (1.2–6.1) | 5.0 (1.7–7.7) | 8.6 (3.0–14.0) | 0.8 (0.5–1.1) | 4.4 (1.9–7.5) | 5.8 (2.8–9.0) | 11.9 (4.9–16.8) | 0.8 (0.6–1.2) |

Abbreviations: EM, extensive metabolizer; IM, intermediate metabolizer; PM, poor metabolizer; UM, ultrarapid metabolizer. ¹CYP2D6 genotypes included in each group: PM, *4/*5; IM, *1/*3 or *1/*4 or *1/*5 or *1/*6; EM, *1/*1; UM, *1/*1 × 2. ²CYP2C9 genotypes included in each group: PM, *2/*3 or *3/*3; IM, *1/*2 or *1/*3; EM, *1/*1. Results are expressed as median values with 25th and 75th percentiles. ^aKruskal-Wallis test, *P* < 0.001.



4

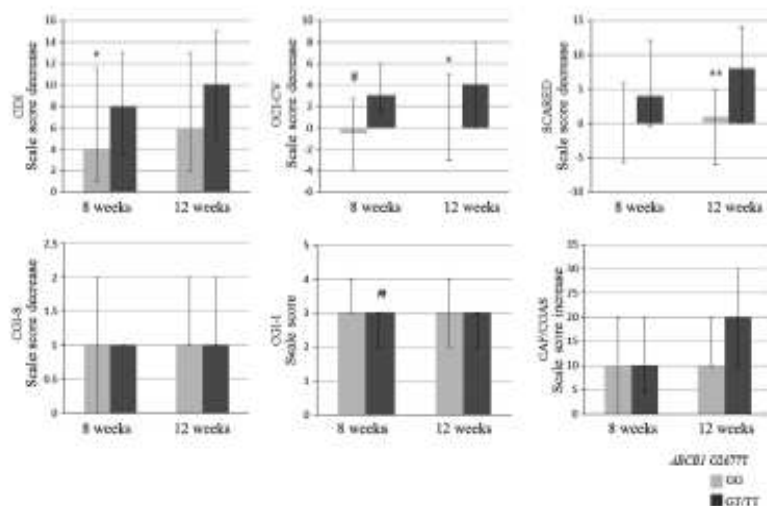


Figure 1. Effect of G267T *ABCB1* polymorphism on clinical improvements measured by differences in scores obtained in CDI, OCI-CV, SCARED, CGI-5, CGI-I and GAF/CGAS after fluoxetine treatment during 8 and 12 weeks. Results are expressed as median values with 25th and 75th percentiles. Mann-Whitney *U*-test: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; # $P < 0.001$. CDI, Children's Depression Inventory; CGI, Clinical Global Impression-Improvement; CGI-5, Clinical Global Impression-Severity; GAF/CGAS, Global Assessment of Functioning/Children's Global Assessment Scale; OCI-CV, Obsessive Compulsive Inventory-Child Version; SCARED, Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders.

scales. After 8 weeks of treatment, T allele carriers showed higher improvements on the CDI ($P = 0.03$), OCI-CV ($P = 0.001$) and CGI ($P < 0.001$) scales. After 12 weeks of treatment as well, these patients showed significantly higher improvements in the OCI-CV ($P = 0.01$) and SCARED ($P = 0.006$) scales (Figure 1). Moreover, significantly higher scores in the CGI-I scale were observed in T allele carriers for the C3435T *ABCB1* polymorphism ($P = 0.03$). However, the *ABCB1* haplotype analysis did not show stronger associations than those observed for the single G267T polymorphism. No difference in response was observed between the *CYP2D6* and *CYP2C9* genotype groups. Given that fluoxetine pharmacokinetics and clinical improvement after fluoxetine treatment were associated with the *CYP2D6* and *ABCB1* genotypes, respectively, a possible enhanced effect of both genetic factors together was also evaluated. Significant results were found for the fluoxetine/(5)-norfluoxetine ratios in *ABCB1* T allele carriers who were *CYP2D6* poor or intermediate metabolizers. However, their median values were the same as those observed in *CYP2D6* PM or IM (Table 2) and the *P*-values obtained did not indicate increased significance (week 8: 1.1 (0.9–1.9), $P = 0.001$; week 12: 1.0 (0.8–1.8), $P = 0.002$). Regarding clinical improvement, significant differences were not found in any of the scales administered when *ABCB1* T allele carriers who were *CYP2D6* poor or intermediate metabolizers were compared to the other subjects. These results indicate that the *CYP2D6* genotype was only involved in fluoxetine pharmacokinetics, while the *ABCB1* genotype was only associated with clinical improvement.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, this paper is the first to study the involvement of genetic variants in *CYP2D6*, *CYP2C9* and *ABCB1* in fluoxetine pharmacokinetics and fluoxetine response in children and adolescent patients. Our results confirm the influence of *CYP2D6* genetic variants in plasma levels and provide evidence for the potential effect of the *ABCB1* genotype on clinical improvement after fluoxetine treatment.

The high inter-individual variability found in the plasma concentrations of fluoxetine, (5)-norfluoxetine, active moiety and fluoxetine/(5)-norfluoxetine ratio is in accordance with data reported in the literature.^{16,18,29} This variability is due to several factors. In our population and in others,¹⁶ body weight was identified as one of the factors involved; however, it was eliminated from our genetic analysis as mean body weight values did not differ in the *CYP2D6*, *CYP2C9* or *ABCB1* genotype groups considered. In this genetic analysis, polymorphisms that decrease or increase the *CYP2D6* metabolic capacity were associated with high and low fluoxetine/(5)-norfluoxetine ratios, respectively. This result confirms the key role of *CYP2D6* genetic variants in the metabolism of fluoxetine to the active metabolite (5)-norfluoxetine in pediatric patients, in accordance with results reported in adults.^{16,18,20,21}

CYP2C9 genotypes have also been implicated in fluoxetine metabolism,^{16,28} but we found no such association with any of the variables studied. Similarly, no influence of *CYP2C9* genotype has been reported on plasma concentrations of many other second-generation antidepressants.²² We also failed to show a significant association between *ABCB1* polymorphisms and plasma levels of fluoxetine or its active metabolite (5)-norfluoxetine. No other studies have evaluated the role of P-gp in the human plasma concentration of this antidepressant.

Although the *ABCB1* genotype was not associated with fluoxetine plasma levels, it showed a potential effect on the clinical drug response. In contrast, *CYP2D6* and *CYP2C9* genotypes seemed to have no influence on fluoxetine response in accordance with the results obtained by Serretti et al.¹⁷ It has been previously reported that plasma levels of individual enantiomers and the active moiety are not associated with a satisfactory therapeutic response,²¹ which suggests that plasma levels may not be correlated with antidepressant intra-cerebral concentrations or with clinical efficacy.²⁴ However, the role of P-gp in limiting the intracerebral concentration of many drugs, including the antidepressants,^{11–13} is well known, which may thereby limit the clinical response. In our study, the non-synonymous G267T

polymorphism of ABCB1 has been associated with clinical improvement after fluoxetine treatment. Our results were robust, since the association was found in the majority of the scales used. Patients carrying the 267T allele showed a higher reduction in depressive symptoms, anxiety and obsessive or compulsive symptoms, as well as a higher improvement in clinical global impression. The same polymorphism and others present in the ABCB1 gene have previously been associated with effectiveness of different antidepressants.^{20,35–39} Although T allele carriers for the synonymous C3435T polymorphism of ABCB1 also showed higher improvement in clinical global impression, the haplotype analysis did not show stronger associations.

Intriguingly, results obtained in mice indicate that fluoxetine may not be a P-gp substrate.⁴⁰ However, our results seem to support the role of P-gp in the bioavailability of fluoxetine in the human brain. It is possible that drugs currently included in the non-P-gp substrate group may be misclassified.⁴¹ This would also explain some other results such as a previous association of ABCB1 polymorphisms with antidepressant response in patients treated with fluoxetine or desipramine,²⁰ and the results obtained by Noodman *et al.*⁴¹ showing an association between genetic variations in ABCB1 and risk of switching and discontinuation of antidepressant therapy not limited to antidepressants being P-gp substrates. However, other studies have associated the clinical response only with antidepressants that are P-gp substrates.^{24,38} If fluoxetine is not in fact transported by P-gp in humans, the results found here may show an association between the ABCB1 genetic variant and clinical improvement, which would be independent of the type of antidepressant used. Interestingly, polymorphisms in ABCB1 have recently been associated with mood disorders including depression.^{20,42} P-gp protects the brain from many drugs but also from other neurotoxic substances such as glucocorticoids, which can produce brain damage and cause depression.⁴³ Decreased P-gp function at the blood-brain barrier may increase the accumulation of toxins in the brain, which may be involved not only in the pathophysiology of mood disorders but also in the poorer response to antidepressant drugs regardless of whether they are substrates of the P-gp.

Our results should be interpreted with caution because of the small sample size. Many factors, including diagnostic variability or co-medication, may have an effect on fluoxetine plasma concentration and clinical response. Although in general they were similarly distributed between the CYP2D6, CYP2C9 or ABCB1 genotype groups, they may have been confounding factors in the genetic analysis. Future studies with larger cohorts will be needed to confirm the results presented here.

In conclusion, our results confirm the influence of CYP2D6 genetic variants in fluoxetine pharmacokinetics and provide evidence for the potential effect of the ABCB1 genotype on the clinical improvement in children and adolescent patients treated with this drug. Genetic markers involved in the brain bioavailability of antidepressants and/or toxic substances seem to be better predictors of clinical response than those related to antidepressant plasma concentrations.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the Spanish Ministry of Health, Instituto Carlos III, Fondo de Investigación Sanitaria (RS) (PI041239 and Sanofi contract CD09/00296 to PG), the Catalan Innovation, Universities and Enterprise Authority (grants DIUE 2009SGR1295, 2009SGR1101, 2009SGR1119), Alicia Koplowitz Foundation, and FEDER-Unión Europea. We thank Rosa Abellana for help in the statistical analysis, and the Language Advisory Service at the University of Barcelona, Spain, for manuscript revision.

Fluoxetine pharmacogenetics in children and adolescents
P. Gasó *et al.*



5

REFERENCES

- Ullah T, Clavenna A, Zuddas A, Bonati M. Randomised controlled trials of selective serotonin reuptake inhibitors in treating depression in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Eur Neuropsychopharmacol* 2008; **18**: 62–73.
- Kaxton CP, Kolko AC, Walkup JT. Pediatric generalized anxiety disorder: epidemiology, diagnosis and management. *Pediatr Drugs* 2009; **11**: 171–183.
- Wlens TE, Cohen L, Biodeman J, Abrams A, Nelt D, Fand N *et al.* Fluoxetine Pharmacokinetics in pediatric patients. *J Clin Psychopharmacol* 2002; **22**: 568–573.
- Blázquez A, Mas S, Rana MT, Lofuente A, Lázaro L. Fluoxetine pharmacogenetics in child and adult populations. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2012; **21**: 999–1010.
- DeVane CL. Metabolism and pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Crit Rev Neurobiol* 1999; **19**: 443–466.
- Hamke C, Härtel S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacol Ther* 2000; **85**: 11–28.
- Ring BJ, Eckstein JA, Gillespie JS, Birkley SN, VandenBranden M, Wrighton SA. Identification of the human cytochrome P450 responsible for *in vitro* formation of R- and S-norfluoxetine. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; **297**: 1044–1050.
- Sachse C, Brockmüller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 1997; **60**: 284–295.
- Rittler AE, Wierkors LC, González FJ, Trager WF, Kozlowski KR. Impaired (S)-warfarin metabolism catalyzed by the R144C allelic variant of CYP2C9. *Pharmacogenetics* 1994; **4**: 39–42.
- Haining RL, Hunter AP, Veronesi ME, Trager WF, Rittler AE. Allelic variants of human cytochrome P450 2C9: baculovirus-mediated expression, purification, structural characterization, substrate stereoselectivity, and prochiral selectivity of the wild-type and B59L mutant forms. *Arch Biochem Biophys* 1994; **333**: 447–458.
- Ullrich M, Grauer MT, Yasoufidi A, Ebinger M. Blood-brain barrier penetration and pharmacokinetics of amitriptyline and its metabolites in P-glycoprotein (abcb1ab) knock-out mice and controls. *J Psychiatr Res* 2007; **41**: 179–188.
- Ullrich M, Grauer MT, Holtschneider F. Differential enhancement of antidepressant penetration into the brain in mice with abcb1ab (mdr1ab) P-glycoprotein gene disruption. *Behav Psychiatry* 2003; **34**: 840–846.
- Ullrich M, Grauer MT. Abcb1ab P-glycoprotein is involved in the uptake of doxapram and trimipramine into the brain of mice. *J Psychiatr Res* 2007; **37**: 179–185.
- Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmüller J, Johne A *et al.* Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; **97**: 3473–3478.
- Eichelbaum M, Freim MF, Schwab M. Clinical aspects of the MDR1 (ABCB1) gene polymorphisms. *Ther Drug Monit* 2004; **26**: 180–185.
- Scordo MG, Spina E, Dahl ML, Gatti G, Perucca E. Influence of CYP2C9, CYP2D6 and CYP2C19 genetic polymorphisms on the steady-state plasma concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; **97**: 295–301.
- Serretti A, Calati R, Massai I, Unioati S, Kasper S, Lecrubier Y *et al.* Cytochrome P450 CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes are not associated with response and remission in a sample of depressive patients. *Int Clin Psychopharmacol* 2009; **24**: 250–256.
- Llerena A, Dorado P, Berez R, González AP, Peña-Lledo BM. Effect of CYP2D6 and CYP2C9 genotypes on fluoxetine and norfluoxetine plasma concentrations during steady-state conditions. *Eur J Clin Pharmacol* 2004; **59**: 869–873.
- Manu P, Gressler F, Vantuyft C, Hardy P, Bacquemont L, Comblé E. Antidepressants and ABCB1 gene C3435T functional polymorphism: a naturalistic study. *Neuropsychobiology* 2010; **62**: 193–197.
- Dong C, Wong ML, Licinio J. Sequence variations of ABCB1, SLCA2, SLCA3, SLCA4, CREB1, CRHR1 and NTRK2: association with major depression and antidepressant response in Mexican-Americans. *Mol Psychiatry* 2009; **14**: 1105–1118.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4th edn. American Psychiatric Press: Washington, DC, 1994.
- Llerena A, Dorado P, Berez R, González A, Norberto JM, de la Rubia A *et al.* Determination of fluoxetine and norfluoxetine in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection in psychiatric patients. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2003; **783**: 25–31.
- Kovacs M. *Children's Depression Inventory Manual*. Multi-Health Systems: New York, 1992.
- Foa EB, Colles M, Huppert JD, Pasupulat RV, Franklin ME, March J. Development and validation of a child version of the obsessive compulsive inventory. *Behav Ther* 2010; **41**: 121–132.
- Birmaher B, Khetarpal S, Brent D, Cully M, Balach L, Kaufman J *et al.* The Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders (SCARED): scale construction and psychometric characteristics. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997; **36**: 545–553.
- Guy W. *ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology*. Revised. United States Department of Health, Education, and Welfare: Bethesda, MD, 1976.



- 27 Lubonky L. Clinician's judgments of mental health: a proposed scale. *Arch Gen Psychiatry* 1962; 7: 407-417.
- 28 Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H et al. A children's global assessment scale (CGAS). *Arch Gen Psychiatry* 1983; 40: 1228-1231.
- 29 Lundmark J, Räs M, Bengtsson F. Serum concentrations of fluoxetine in the clinical treatment setting. *Ther Drug Monit* 2001; 23: 139-147.
- 30 Eap CS, Bondolfi G, Zullino D, Savary-Cosendai L, Powell-Galay K, Kozal M et al. Concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine after multiple doses of fluoxetine in cytochrome P4502D6 poor and extensive metabolizers. *J Clin Psychopharmacol* 2001; 21: 330-334.
- 31 Chaffar C, Broly F, Uemitsu M, Pinto E, Anisauu M, Plombiaux G. Polymorphisms in the CYP2D6 gene: association with plasma concentrations of fluoxetine and paroxetine. *Ther Drug Monit* 2003; 25: 738-742.
- 32 Gramlinder K, Verweilt PL, Retschel M, Dragovic A, Müller M, Hienke C et al. Impact of polymorphisms of cytochrome-P450 isoenzymes 2C9, 2C19 and 2D6 on plasma concentrations and clinical effects of antidepressants in a naturalistic clinical setting. *Eur J Clin Pharmacol* 2004; 60: 329-336.
- 33 Jannuzzi G, Gatti G, Magni P, Spina E, Pacifici R, Zaccaro P et al. Plasma concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine: sources of variability and preliminary observations on relations with clinical response. *Ther Drug Monit* 2002; 24: 616-627.
- 34 Rasmussen BS, Sørensen K. Is therapeutic drug monitoring a case for optimizing clinical outcome and avoiding interactions of the selective serotonin reuptake inhibitors? *Ther Drug Monit* 2000; 22: 143-154.
- 35 Geix-Fabry M, Eap CB, Onada S, Genesani N, Aubry JM, Bondolfi G et al. CYP2D6 and ABCB1 genetic variability: influence on paroxetine plasma level and therapeutic response. *Ther Drug Monit* 2008; 30: 474-482.
- 36 Sarginson JE, Lazzaroni LC, Ryan HS, Eshoff RD, Schatzberg AF, Murphy J. GM. ABCB1 (MDR1) polymorphisms and antidepressant response in geriatric depression. *Pharmacogenet Genomics* 2010; 20: 467-475.
- 37 Nilsch G, Eap CB, Baumann P. Citalopram enantiomers in plasma and cerebrospinal fluid of ABCB1 genotyped depressive patients and clinical response: a pilot study. *Pharmacol Res* 2008; 58: 344-347.
- 38 Uhr M, Tontsch A, Namendorf C, Ripke S, Lucas S, King M et al. Polymorphisms in the drug transporter gene ABCB1 predict antidepressant treatment response in depression. *Neuron* 2008; 57: 203-209.
- 39 Kato M, Fukuda T, Sawada A, Wakano M, Okugawa G, Ikenaga Y et al. ABCB1 (MDR1) gene polymorphisms are associated with the clinical response to paroxetine in patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 398-404.
- 40 Uhr M, Stockler T, Vasouzidis A, Holboer F. Penetration of amitriptyline, but not of fluoxetine, into brain is enhanced in mice with blood-brain barrier deficiency due to mdrl/a P-glycoprotein gene disruption. *Neuropsychopharmacology* 2000; 23: 380-387.
- 41 Noordam R, Aarts N, Hofman A, van Schaik RH, Smeijter BH, Visser LE. Association between genetic variation in the ABCB1 gene and switching discontinuation, and dosage of antidepressant therapy: results from the Rotterdam Study. *J Clin Psychopharmacol* 2013; 33: 546-550.
- 42 Fujii T, Ota M, Hori H, Saayama D, Hibino K, Tanishi T et al. Association between the functional polymorphism (C3435T) of the gene encoding P-glycoprotein (ABCB1) and major depressive disorder in the Japanese population. *J Psychiatr Res* 2012; 46: 555-559.
- 43 Kanugi H, Hori H, Adachi N, Numakawa T. Interface between hypothalamic-pituitary-adrenal axis and brain-derived neurotrophic factor in depression. *Psychiatry Clin Neurosci* 2010; 64: 447-459.

4.1-Estudio III: “Seguimiento a 1 año de adolescentes diagnosticados de un episodio depresivo mayor: relación entre las variables clínicas y los genotipos CYP2D6, CYP2C9 y ABCB1”

4.3.1- Tasas de remisión y recuperación de un episodio depresivo mayor en una cohorte de pacientes tratados con FLX un mínimo de 12 semanas

De los 46 pacientes, 32 (69,5%) cumplieron criterios de remisión. En la tabla 12 se comparan las diferencias clínicas entre los pacientes en los que hubo remisión y en los que no. La remisión no se relacionó con variables tales como el abandono del tratamiento, la presencia de diagnósticos comórbidos o la historia familiar de TDM. Respecto a la recuperación, 26 pacientes (56,5%) se recuperaron del episodio depresivo al año (tabla 12). Como en la remisión, no se relacionó la recuperación con abandono del tratamiento, la presencia de diagnósticos comórbidos o la historia familiar de TDM.

Tabla 12. Variables clínicas entre pacientes con/sin remisión y pacientes con/sin recuperación.

| Variables | Sin remisión n=14 | | Con remisión n=32 | | t | p ^a | Sin recuperación n=20 | | Con recuperación n=26 | | t | p ^a |
|-------------------------------|----------------------|-------|----------------------|-------|-------|----------------|--------------------------|-------|--------------------------|-------|-------|----------------|
| | Media | DS | Media | DS | | | Media | DS | Media | DS | | |
| Edad | 15,71 | 1,59 | 16,00 | 1,90 | 0,68 | 0,500 | 15,65 | 1,87 | 16,12 | 1,75 | -0,86 | 0,390 |
| Dosis basal de FLX | 20,92 | 7,37 | 20,63 | 6,19 | -0,14 | 0,890 | 22,21 | 7,71 | 19,62 | 5,28 | -1,34 | 0,187 |
| Dosis de FLX a los 12m | 22,14 | 20,07 | 21,88 | 15,54 | -0,05 | 0,961 | 26,00 | 19,30 | 18,85 | 14,23 | -1,48 | 0,137 |
| Número de readmisiones | 1,87 | 2,07 | 0,28 | 0,88 | -3,64 | 0,001 | 1,30 | 1,92 | 0,35 | 0,98 | 2,19 | 0,034 |
| Semanas readmitido | 6,90 | 8,97 | 0,66 | 1,79 | -3,81 | 0,000 | 5,03 | 8,07 | 0,65 | 1,67 | 2,69 | 0,010 |
| Número de tentativas suicidas | 1,00 | 1,52 | 0,28 | 0,73 | -2,18 | 0,034 | 1,00 | 1,41 | 0,12 | 0,43 | 3,02 | 0,004 |
| CDI basal | 32,14 | 5,98 | 26,44 | 8,15 | -2,35 | 0,023 | 31,65 | 4,86 | 25,50 | 8,84 | 2,79 | 0,008 |
| CDI a los 12m | 26,36 | 9,59 | 10,94 | 7,85 | -5,68 | 0,000 | 23,65 | 9,10 | 9,46 | 7,93 | 5,61 | 0,000 |
| CGI basal | 5,07 | 0,92 | 4,81 | 0,93 | -0,87 | 0,388 | 5,05 | 0,83 | 4,77 | 0,99 | 1,02 | 0,313 |
| CGI a los 12m | 4,29 | 1,20 | 2,03 | 1,35 | -5,36 | 0,000 | 4,29 | 1,20 | 2,03 | 1,35 | -5,36 | 0,000 |
| EEAG basal | 40,29 | 14,92 | 46,63 | 11,34 | 1,58 | 0,121 | 40,29 | 14,92 | 46,63 | 11,34 | 1,58 | 0,121 |
| EEAG a los 12m | 54,57 | 11,51 | 74,13 | 13,30 | 4,67 | 0,000 | 54,57 | 11,51 | 74,13 | 13,30 | 4,67 | 0,000 |

^aT de student test

4.3.2- Remisión, recuperación y los genotipos CYP2D6, CYP2C9 y ABCB1

Para el CYP2D6 se dividió la muestra en dos grupos: EM+UM y IM+PM. Las frecuencias de estos 2 grupos fueron similares para los pacientes con remisión y sin remisión y para los recuperados versus los no recuperados (tabla 13). Para el CYP2C9 también se dividió la muestra en dos grupos, siendo también las frecuencias parecidas. Si se encontró una tendencia no significativa entre ser EM y la recuperación ($\chi^2 = 3,552$, $p = 0,09$). Los polimorfismos G2677T y C3435T del ABCB1 tampoco se asociaron con remisión, recuperación o riesgo suicida.

Tabla 13. Distribución genotipos CYP2D6, CYP2C9 y ABCB1.

| Genotipos | Sin remisión n=14 0. (%) | | Con remisión n=32 0. (%) | | Sin recuperación n=20 0. (%) | | Con recuperación n=26 0. (%) | |
|---------------------|--------------------------------|------------|--------------------------------|------------|------------------------------------|--|------------------------------------|--|
| | | | | | | | | |
| CYP2D6 | | | | | | | | |
| EM+UM | 9 (64,3%) | 23 (71,9%) | 13 (65,0%) | 19 (73,1%) | | | | |
| IM + PM | 5 (35,7%) | 9 (28,1%) | 7 (35,0%) | 7 (26,9%) | | | | |
| CYP2C9 | | | | | | | | |
| EM | 10 (71,4%) | 24 (75,0%) | 12 (60,0%) | 22 (84,6%) | | | | |
| No-EM (IM+PM) | 4 (28,6%) | 8 (25,0%) | 8 (40,0%) | 4 (15,4%) | | | | |
| ABCB1 G2677T | | | | | | | | |
| GG | 6 (42,9%) | 14 (43,8%) | 8 (40,0%) | 12 (46,2%) | | | | |
| GT or TT | 8 (57,1%) | 18 (56,3%) | 12 (60,0%) | 14 (53,8%) | | | | |
| ABCB1 C3435T | | | | | | | | |
| CC | 4 (28,6%) | 11 (34,4%) | 6 (30,0%) | 9 (34,6%) | | | | |
| CT or TT | 10 (71,4%) | 21 (65,6%) | 14 (70,0%) | 17 (65,4%) | | | | |

Abreviaciones: PM metabolizador pobre, IM metabolizador intermedio, EM metabolizador extenso, UM metabolizador ultra-rápido.
 † Genotipos CYP2D6 incluidos en cada grupo: PM, *4/*5; IM, *1/*3 o *1/*4 o *1/*5 o *1/*6; EM, *1/*1; UM, *1x2/*1.
 ‡ Genotipos CYP2C9 incluidos en cada grupo: PM, *2/*3 o *3/*3; IM, *1/*2 o *1/*3; EM, *1/*1.

4.3.3- PDF del artículo 3 (en revisión)

“One-year follow-up of adolescents with major depressive disorder: relationship between clinical variables and CYP2D6, CYP2C9, and ABCB1 genes”. Blázquez A, Gassó P, Mas S, Plana MT, Lafuente A, Lázaro L. Enviado para revisión a la revista: Int Clin Psychopharmacol FI: 3.098

International Clinical Psychopharmacology
One-year follow-up of adolescents with major depressive disorder: relationship between clinical variables and CYP2D6, CYP2C9, and ABCB1 genes
 --Manuscript Draft--

| | |
|---|---|
| Manuscript Number: | |
| Full Title: | One-year follow-up of adolescents with major depressive disorder: relationship between clinical variables and CYP2D6, CYP2C9, and ABCB1 genes |
| Article Type: | Original Study |
| Keywords: | fluoxetine; major depression disorder; recovery; remission; cytochrome P450; ABCB1 |
| Corresponding Author: | ANA BLÁZQUEZ Hospital Clínic de Barcelona barcelona, SPAIN |
| Corresponding Author Secondary Information: | |
| Corresponding Author's Institution: | Hospital Clínic de Barcelona |
| Corresponding Author's Secondary Institution: | |
| First Author: | ANA BLÁZQUEZ |
| First Author Secondary Information: | |
| Order of Authors: | ANA BLÁZQUEZ patricia gassó sergi mas maria teresa plana amalia lafuente luisa lázaro |
| Order of Authors Secondary Information: | |
| Manuscript Region of Origin: | SPAIN |
| Abstract: | Differences in response to fluoxetine (FLX) may be influenced by certain genes that are involved in FLX pharmacokinetics (CYP2D6 and CYP2C9) and transportation (ABCB1). We examined remission and recovery from the index episode in a cohort of patients treated with FLX for 12 months, and also investigated associations between genetic variants in CYP2D6, CYP2C9, and ABCB1 and remission, recovery, and suicide risk. It was a naturalistic 1-year follow-up study of 46 adolescents diagnosed with MDD. At 12 months the participants underwent a diagnostic interview with the K-SADS-PL. It was found that remission was around 69.5% and recovery 56.5%. Remission and recovery were associated with lower scores on the CDI at baseline, with fewer readmissions and suicide attempts, and with lower scores on the CGI and higher scores on the GAF scale. No relationship was found between FLX pharmacokinetics genes and remission or recovery, or with suicide risk. Knowledge of the cytochrome P450 metabolism status of patients or of the ABCB1 genotype may not be helpful in predicting the rate of recovery or remission. Other factors such as stressful events, family support, and other genetic factors are likely to be involved in MDD outcome. |

Manuscript (Title page; Abstract; Keywords; Text; references; legends; acknowledgements)

1

One-year follow-up of adolescents with major depressive disorder: relationship between clinical variables and CYP2D6, CYP2C9, and ABCB1 genes

Running head: MDD follow-up and pharmacokinetics

Ana Blázquez^{a,*}, Patricia Gassó^{b,o,d}, Sergi Mas^{b,o,d}, Maria Teresa Plana^a, Amàlia Lafuente^{b,o,d}, Luisa Lázaro^{a,o,d,*}

^aDepartment of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology, Institute of Neurosciences, Hospital Clinic de Barcelona, Spain

^bDepartment of Anatomic Pathology, Pharmacology and Microbiology, University of Barcelona, Spain

^cInstitut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain

^dCentro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Spain

^eDepartment of Psychiatry and Clinical Psychobiology, University of Barcelona, Spain

*Corresponding author: Ana Blázquez. Department of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology, Institute of Neurosciences, Hospital Clinic de Barcelona, c/Villarroel nº170, 08036, Barcelona, Spain. Tel number: 0034932279974 Fax: 0034932279228. Email: abhinojo@clinic.ub.es

The study was financially supported by Alicia Koplowitz Foundation, by Instituto Carlos III and FEDER. "Unión Europea. Una manera de hacer Europea" and the support of La Generalitat de Catalunya to the group of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology (2009 SGR 1119).

The authors declare no potential conflicts of interest.

Abstract

Differences in response to fluoxetine (FLX) may be influenced by certain genes that are involved in FLX pharmacokinetics (*CYP2D6* and *CYP2C9*) and transportation (*ABCB1*). We examined remission and recovery from the index episode in a cohort of patients treated with FLX for 12 months, and also investigated associations between genetic variants in *CYP2D6*, *CYP2C9*, and *ABCB1* and remission, recovery, and suicide risk. It was a naturalistic 1-year follow-up study of 46 adolescents diagnosed with MDD. At 12 months the participants underwent a diagnostic interview with the K-SADS-PL. It was found that remission was around 69.5% and recovery 56.5%. Remission and recovery were associated with lower scores on the CDI at baseline, with fewer readmissions and suicide attempts, and with lower scores on the CGI and higher scores on the GAF scale. No relationship was found between FLX pharmacokinetics genes and remission or recovery, or with suicide risk. Knowledge of the cytochrome P450 metabolism status of patients or of the *ABCB1* genotype may not be helpful in predicting the rate of recovery or remission. Other factors such as stressful events, family support, and other genetic factors are likely to be involved in MDD outcome.

Key words: fluoxetine; major depression disorder; recovery; remission; cytochrome P450; *ABCB1*

Introduction

Major depressive disorder (MDD) is a severe psychiatric illness in childhood, with 2-8% of children and adolescents affected (Birmaher *et al.*, 1996; Costello *et al.*, 2002). A major depressive episode is characterized by a period of low mood of at least 2 weeks duration, accompanied by other cognitive and behavioral features (Lewinsohn *et al.*, 1994; Carr, 2008), which significantly interferes with a child's normal emotional and cognitive development (Birmaher *et al.*, 2002). MDD is also associated with serious problems, including impairment in school, relationships, and problems with parents, as well as substance abuse and attempted and completed suicide (Birmaher *et al.*, 1996; Gould *et al.*, 2004; Glied and Pine, 2002; Dopheide, 2006). Childhood- and adolescent-onset major depressive disorder increases the risk for the recurrence of depression and for psychosocial difficulties during adulthood (Lewinsohn *et al.*, 1999; Fombonne *et al.*, 2001; Emslie, 2008). Most youngsters recover from a depressive episode within 1 year and about a tenth relapse during the following year (Carr, 2008; Emslie *et al.*, 2004; Kennard *et al.*, 2006). Recurrence most often occurs within 6-12 months of remission (Birmaher *et al.*, 1996; Birmaher *et al.*, 2002).

Some studies have found that 21-41% of adolescents were still depressed a year after the index interview (Kovacs *et al.*, 1989; Essau, 2007). Over the past decade it has become clear that all antidepressants, when effective during the acute phase of therapy, also significantly reduce the risk of relapse (Emslie, 2004; Thase, 2006). Controlled clinical trials in youth suggest that selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) are safe and effective for the treatment of MDD (Emslie *et al.*, 2002; Usala *et al.*, 2008). Fluoxetine (FLX) is currently the only SSRI approved by the European Medicines Agency for the treatment of major depression in children above the age of eight and in whom psychological treatment has not been effective (Kronenberg *et al.*,

2008). FLX has been shown to be effective and well tolerated for the long-term treatment of MDD in children and adolescents (Emslie *et al.*, 2004; TADS team, 2009), and it was superior to placebo in preventing relapse and in increasing time to relapse in children and adolescents with MDD (Emslie *et al.*, 2008). However, 30-40% of these patients still fail to respond completely (Kato and Serretti, 2010). Differences in response and remission rates in patients treated with fluoxetine may be influenced by certain genes that are involved in the drug's pharmacokinetics (Blázquez *et al.*, 2012).

FLX is a racemic mixture of two equally potent enantiomers, (S)- and (R)-fluoxetine (DeVane, 1999), which are metabolized to norfluoxetine (NORFLX) by different isoenzymes of cytochrome P450, especially by *CYP2D6* and *CYP2C9*. Different metabolic profiles have been described: poor metabolizers (PM), carriers of functionally inactive alleles; intermediate metabolizers (IM), carriers of reduced-activity alleles; extensive metabolizers (EM) carriers of active alleles; and ultrarapid metabolizers (UM), carriers of high expressing alleles or who show increased enzyme activity due to gene amplification (Charlier *et al.*, 2003; Scordo *et al.*, 2004; Zhou, 2009). In addition to its metabolism, variability in the transportation of fluoxetine may have an effect on response. The main transporter is P-glycoprotein, which is encoded by the *ABCB1* gene. Two polymorphisms, one non-synonymous SNP (*G2677T* or *rs2032582*) and one synonymous SNP (*C3435T* or *rs1045642*), have been associated with altered P-glycoprotein activity (Dong *et al.*, 2009; Menu *et al.*, 2010).

To the best of our knowledge there is only one paper studying the influence of genetic variants in *CYP2D6*, *CYP2C9*, and *ABCB1* on fluoxetine pharmacokinetics and its relationship to FLX response in child and adolescent patients (Gassó *et al.*, 2014). The results of this study were congruent with previous findings in adult samples (Dong *et al.*, 2009; Menu *et al.*, 2010; Llerena *et al.*, 2004; Scordo *et al.*, 2005; Serretti *et al.*,

2009) and confirm the influence of *CYP2D6* genetic variants on plasma levels, thereby offering a potential explanation for the effect of the *ABCB1* genotype on clinical improvement after FLX treatment. There is scant literature, however, on FLX pharmacokinetics and remission of MDD. We are aware of only one study of *CYP2D6* and *CYP2C9* and another of *ABCB1* in depressed adult patients. The first study found no association between allelic variations of cytochrome P450 *CYP2D6* and *CYP2C9* genes and remission rates in patients treated with different antidepressants (Serretti *et al.*, 2009). As regards the second study, the data suggested that the antidepressant dose needed to achieve remission can be predicted by an *ABCB1* SNP (C3435T polymorphism) (Singh *et al.*, 2012).

To date, no studies have examined the role of the metabolic profile modulated by *CYP2D6*, *CYP2C9*, and *ABCB1* genes in remission and recovery rates among children and adolescents diagnosed with MDD. The present study, which involved a 12-month naturalistic follow-up of depressed adolescents, had two aims: (a) to examine remission and recovery from the index episode in a cohort of patients treated with FLX for at least 12 weeks; and (b) to search for associations between genetic variants in *CYP2D6*, *CYP2C9*, and *ABCB1* and remission and/or recovery from the index episode.

Methods

Study Design

The present study is a continuation of two previous studies carried out in 2011-13 in the Child and Adolescent Psychiatry and Psychology Service of the Institute of Neurosciences at the Hospital Clinic in Barcelona (Gassó *et al.*, 2014, Blázquez *et al.*, 2014). In the original investigation (Blázquez *et al.* 2014), 83 children aged between 10 and 17 years and who met DSM-IV-TR diagnostic criteria for MDD, obsessive compulsive disorder (OCD), or generalized anxiety disorder (GAD) were recruited. All

subjects began fluoxetine treatment in the initial phase of the study. Patients and their parents were interviewed at week 0 using the Spanish version (Ulloa *et al.*, 2006) of the semi-structured diagnostic interview K-SADS-PL (Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children—Present and Lifetime Version) (Kaufman *et al.*, 1997), the purpose being to assess current and past psychopathology. Information about severity of illness was obtained at week 0 through application of the following instruments: the Children's Depression Inventory (CDI) (Kovacs, 1992), the Obsessive-Compulsive Inventory—Child Version (OCI-CV) (Foa *et al.*, 2010), the Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders (SCARED) (Birmaher *et al.*, 1997), the Clinical Global Impression–Severity scale (CGI-S) (Guy, 1976), and either the Global Assessment of Functioning scale (GAF) (Luborsky, 1962) or the Children's Global Assessment Scale (CGAS) (Shaffer *et al.*, 1983). In order to assess clinical improvement the CDI, SCARED, OCI-CV, the CGI–Improvement scale (CGI-I), and the GAF/CGAS scales were administered at 8 and 12 weeks. After reaching steady-state conditions, blood samples were obtained for quantification of drug plasma levels after 8 and 12 weeks of treatment. An extra blood sample was collected for *CYP2D6*, *CYP2C9*, and *ABCB1* genotyping.

Patients diagnosed with MDD who received FLX for 12 weeks were invited to participate in the continuation of the study that is described here. All procedures were approved by the hospital's Ethics Committee. Written informed consent was obtained from all parents and verbal informed consent was given by all subjects following explanation of the procedures involved.

Follow-Up

The period of recruitment ran from June 2012 to May 2014. A total of 54 subjects aged between 11 and 18 years met the inclusion criteria (i.e., DSM-IV

diagnostic criteria for MDD, as determined by an experienced child psychiatrist from the Service, and being treated with FLX at least during the acute phase of the illness [12 weeks]) (Blázquez *et al.*, 2014). Of these 54 patients, 8 refused to participate in the continuation of the study (the main reason being lack of contact with mental health services). The final sample therefore comprised 46 patients. There were no significant differences between the followed-up sample and those not followed-up in terms of age at onset, gender, comorbid diagnoses, or CDI and CGI scores at week 0 (see Table 1).

At 12 months the participants underwent a diagnostic interview with the K-SADS-PL. Remission was defined as a relatively asymptomatic period of at least 14 days. Recovery was defined as an asymptomatic period of at least 60 days. Both 'definitions' were based on the K-SADS-PL interview and the clinical history during the 12-month follow-up period. We also considered relapse, defined as an episode of depression after remission but before recovery. As proposed by Frank *et al.*, 1991, these terms were assessed independent of treatment.

The severity of MDD during the follow-up period, based on scores on the CDI, CGI, and GAF/CGAS, was also taken into account.

Assessment scales

-The Children's Depression Inventory (CDI) evaluates the presence and severity of specific depressive symptoms in youth. It contains 27 items, each scored from 0 to 2. Depressed children were defined as those with a self-report CDI score ≥ 19 (Kovacs, 1992).

-The CGI-Severity and CGI-Improvement scales. The Clinical Global Impression—Severity scale (CGI-S) (Luborsky, 1962) assesses the severity of global symptomatology on a scale of 1 (normal, not at all ill) to 7 (extremely ill). The Clinical Global Impression—Improvement scale (CGI-I) assesses the adequacy of clinical

response since the start of treatment and is also rated on a 7-point scale, as follows: 1=very much improved, 2=much improved, 3=minimally improved, 4=no change from baseline, 5=minimally worse, 6=much worse, and 7=very much worse.

-The GAF scale and the CGAS. The Global Assessment of Functioning (GAF) scale (Luborsky 1962) and the Children's Global Assessment Scale (CGAS) (Shaffer *et al.*, 1983) are clinician-administered instruments used to assess symptomatic and psychosocial functioning. They are numeric scales with a score range from 1 to 100, with scores above 70 being considered as in the normal range. In the present study the CGAS was administered to subjects under 12 years of age.

Genotyping procedure

The genotyping procedure has been previously reported (Gassó *et al.*, 2014).

Statistical Analyses

Differences between groups of subjects, recovered versus not recovered and remitters versus non-remitters, were examined with the Student's T test or χ^2 tests, as appropriate. The Wilcoxon test was used to assess differences in variables between 12 months and baseline. All tests were two-tailed, and all statistical analyses were carried out with SPSS 18.0 (SPSS, Inc.). The level of statistical significance was set at $p < .05$.

Results

All 46 subjects completed the 1-year naturalistic follow-up with an interview at 12 months following the end of acute treatment. Table 2 shows the comparison of certain variables at baseline and at 12 months. Patients had low CDI and CGI scores and high CGAS scores at 12 months. The rate of FLX maintenance over 12 months was 39/46 (84.8%). In three patients, treatment was changed at 3 months to sertraline (2 due to no treatment response and 1 due to side effects). In one patient, treatment

was changed to lithium. In the other three cases treatment was interrupted after 6 months by the order of a psychiatrist due to clinical improvement.

Remission

Thirty-two patients (69.5%) had a 14-day asymptomatic period during follow-up. Table 3 shows a comparison of demographic and clinical features between remitted and non-remitted patients. Those who did not remit had higher CDI, CGI, and GAF scores (i.e., greater severity) and poorer functioning, with more suicide attempts and more readmissions. Remission was not related to gender (males remitted, 90%; females remitted, 65.7%; $\chi^2 = 2.520$, $p = .143$), treatment dropout (74.3% remitters and taking FLX, 54.5% remitters and no longer taking FLX; $\chi^2 = 1.540$, $p = .269$), comorbid diagnoses ($\chi^2 = 0.447$, $p = 1.000$), or a family history of MDD (family history and remission, 63.6%; no family history and remission, 71.4%; $\chi^2 = 0.240$, $p = .713$). After remission, 17 subjects (39.5%) met criteria for relapse. There was a trend towards a relationship between relapse and younger age of onset (relapsed patients: mean age 13.47 years, SD = 2.00; non-relapsed patients, mean age 14.55 years, SD = 1.82; $t = -1.87$, $p = .068$).

Recovery

Of the 46 subjects followed-up, 26 (56.5%) met criteria for recovery during the 12 month follow-up period. Fourteen patients with a relapse (82.4%) were recovered at 12 months. Table 3 also shows a comparison of demographic and clinical features between recovered and non-recovered patients. As in remitted patients those who did not recover had higher scores on the CDI, CGI, and GAF (i.e., greater severity) and poorer functioning, with more suicide attempts and more readmissions. Recovery was not related to gender (males recovered, 70%; females recovered, 52.7%; $\chi^2 = 0.947$, $p = .476$), treatment dropout (57.1% recovered and taking FLX, 54.5% recovered and no

longer taking FLX; $\chi^2 = 0.627$, $p = .682$), comorbid diagnoses such as eating disorders, anxiety disorders, or disruptive disorders ($\chi^2 = 1.329$, $p = .435$), or with a family history of MDD (family history and recovered, 63.6%; no family history and recovered, 54.3%; $\chi^2 = 0.298$, $p = .732$).

Pharmacokinetics, Remission, and Recovery

Table 4 shows the distribution of *CYP2D6*, *CYP2C9*, and *ABCB1* genotypes, comparing remitters with non-remitters and recovered with non-recovered patients. We divided the sample into two groups: EM + UM and IM + PM. The first group included patients with two normal alleles (EM) or more than two functional alleles (UM), whereas the second group included patients with either one allele with reduced function and one that was non-functional or two with reduced function (IM), and those with two non-functional alleles (PM). Frequencies of *CYP2D6* among EM + UM and IM + PM were similar in remitters and non-remitters ($\chi^2 = 0.265$, $p = .731$) and in recovered and non-recovered patients ($\chi^2 = 0.348$, $p = .748$). We also compared *CYP2C9* EM patients with non-EM (IM+PM) individuals. Similar metabolic profiles were found in these different sub-groups, and there was a non-significant trend towards recovery in EM compared with non-EM ($\chi^2 = 3.552$, $p = .09$). The *ABCB1* G2677T polymorphism was not associated with remission ($\chi^2 = 0.001$, $p = 1.000$) or recovery ($\chi^2 = 1.419$, $p = .292$). Likewise, the *ABCB1* C3435T polymorphism was not associated with either remission ($\chi^2 = 0.463$, $p = .724$) or recovery ($\chi^2 = 0.053$, $p = 1.000$). No association was found between suicide risk and *CYP2D6* genotypes ($\chi^2 = 0.726$, $p = .477$), *CYP2C9* genotypes ($\chi^2 = 0.011$, $p = 1.000$), the *ABCB1* G2677T polymorphism ($\chi^2 = 0.260$, $p = .682$), or the *ABCB1* C3435T polymorphism ($\chi^2 = 0.007$, $p = 1.000$).

Discussion

Remission and recovery rates in this study were similar to those found in the literature. Non-remitted and non-recovered patients had higher CDI and CGI scores and lower GAF scores a year after the index episode. They also made more suicide attempts and needed more readmissions. Remission and recovery was not related to gender, treatment dropout, comorbidity, or a family history of MDD. High CDI scores at baseline were associated with worse outcome. Differences in metabolic profile modulated by *CYP2D6*, *CYP2C9*, and *ABCB1* genes did not appear to have an influence on remission, recovery, or suicide risk.

Regarding remission, our results (69.5% of patients) are congruent with published findings. Longitudinal studies of community and clinic-based samples suggest that 60-90% of depressive episodes in adolescents remit within a year (Dunn and Goodyear, 2006; March *et al.*, 2006). In the Treatment for Adolescents with Depression Study (TADS), which assessed the effectiveness of fluoxetine, cognitive-behavioral therapy (CBT), and their combination in adolescents with major depressive disorder, remission rates were around 67-69% (The TADS team, 2009). These findings highlight the importance of continuation and maintenance phase treatments, since rates of remission improve over time and with continued treatment (Kennard *et al.*, 2009).

As for recovery, 43.5% of our patients were still depressed a year after the index interview. This proportion is slightly higher than those reported in previous studies (Kovacs *et al.*, 1989; Essau, 2007; Emslie *et al.*, 1998), where between 21% and 41% of patients still met the criteria for a diagnosis of depression a year after the index episode. In our study, patients who were still depressed a year after the index episode had higher baseline scores on the CDI. In line with previous studies (Emslie *et*

et al., 1998; Lewinsohn *et al.*, 1994; Gledhill and Garralda, 2011) both remission and recovery appear to be associated with lower severity of depressive symptoms and shorter time to recovery. Furthermore, adolescents with depression were impaired in several domains, including having more problems in social/leisure activities and in significant relationships than did non-depressed adolescents (Geller *et al.*, 2001). Depressed adolescents not only scored higher on the CGI and lower on the GAF but they were also at increased risk of being hospitalized for mental illness (Harrington *et al.*, 1991) and they presented more suicide attempts (Kovacs *et al.*, 1993). Suicidal behavior is probably related to the stability of depression and it may be a characteristic feature of severe depression (Dunn and Goodyear, 2006; Williams *et al.*, 2006). The likelihood of a suicide event has been reported to be about four to five-fold higher for children with a history of MDD (Birmaher *et al.*, 2002; Kovacs *et al.*, 1993). In contrast to some previous research (Essau, 2007; Dunn and Goodyear, 2006), being female or the presence of comorbid disorders were not related to remission or recovery among our patients. Similarly, we observed no relationship between a family history of MDD and recovery, which is consistent with the findings of Essau *et al.*, 2006. One explanation for these results could be that the development and severity of MDD are influenced not only by genetics but also by other factors such as stressful life events or family adversity (Lau and Eley, 2008; Silberg *et al.*, 2001).

Regarding relapse, rates were similar to those reported previously in studies comparing continued treatment with fluoxetine with placebo. In these studies, relapse rates in the FLX group were between 34% and 42% (Emslie, 2008; Emslie *et al.*, 2004), compared with around 60% in the placebo group. Our analysis revealed a trend towards a relationship between age at onset and relapse. Early onset may represent a more serious form of depression, being indicative of a strong genetic or environmental

vulnerability, or the consequence of less individual resilience (Gledhill and Garralda, 2011). Antidepressants of all types have shown limited efficacy in juvenile depression, although their efficacy seems to increase with age. A meta-analysis of research with child and adolescent populations concluded that the rate of treatment response increases with age (Tsapakis *et al.*, 2008).

In line with previous research (Serretti *et al.*, 2009) no relationship was found between different metabolic profiles of *CYP2D6* and *CYP2C9* and recovery or remission. Consequently, in the case of FLX, knowledge of patients' cytochrome P450 metabolism status may not help to predict their likelihood of remission. The lack of evidence in this regard may be due to the presence of other factors that modulate recovery or remission in relation to MDD. These other risk factors could include both environmental variables, such as exposure to acute stressful events and chronic adversity (Pine *et al.*, 2002; Thapar *et al.*, 2012), and genetic factors, mainly variants of the serotonergic system (Kato and Serretti, 2010). In terms of suicide risk, the inheritance of suicidality has been reported to be independent of the underlying psychiatric diagnosis, thereby suggesting a genetic influence (Fu *et al.*, 2002). In this context, it has been proposed that *CYP2D6* genetic polymorphisms are associated with severe suicide attempts (Peñas-Lledó *et al.*, 2012). The authors of this study suggested that treatment with SSRIs, which are metabolized by this enzyme, would be ineffective against the suicide attempt. In our sample, however, we found no association between the abovementioned metabolic profiles and either suicide risk or a personal history of suicide attempts. Our results are congruent with a previous study in adults, in which relevant variants of *CYP2D6* and *CYP2C9* were not associated with suicide (Höfer *et al.*, 2013).

With respect to *ABCB1*, our previous study (Gassó *et al.*, 2014) found that the *G2677T ABCB1* polymorphism had an effect on clinical improvement in child and adolescent patients treated with FLX. In relation to recovery and/or remission, no association was found with the *G2677T* or *C3435T ABCB1* polymorphisms. Interestingly, a previous study by Singh *et al.* found that the antidepressant dose needed to remit could be predicted by an *ABCB1 SNP (C3435T polymorphism)*. This discrepancy could be explained by the fact that they examined remission during the acute phase whereas we considered it at different times during the follow-up period. Thus, the results of the study by Singh *et al.*, (2012) would support our previous finding that the *ABCB1* polymorphism had an effect on clinical improvement. In contrast to a previous study by Boiso Moreno *et al.*, (2013) in forensic samples, we found no association between suicide risk and the *G2677T* or *C3435T ABCB1* polymorphisms.

The main limitation of our study is the small sample size, which results from the strict criteria for starting antidepressant treatment in childhood. A further limitation is that the assessment scales were not administered during weeks 12 to 54. A strength of the study is that the K-SADS-PL was administered by the same clinician at baseline and at 12 months after the index episode.

Conclusions

Remission and recovery rates were, respectively, similar to and slightly higher than those reported in previous studies of child and adolescent populations. Non-remitted and non-recovered patients had more severe episodes, with higher CDI scores at baseline, and they also made more suicide attempts and had more readmissions during the year of follow-up than recovered and remitted patients. It appears that knowledge of the cytochrome P450 metabolism status of patients or of the presence of the *ABCB1* genotype does not help to predict the rate of remission and

recovery. This suggests that other factors, such as stressful events, family support, and other genetic factors are probably involved in recovery and remission. Follow-up studies with larger samples of child and adolescent depressed patients are now needed.

Acknowledgements

The study was financially supported by Alicia Koplowitz Foundation, by Instituto Carlos III and FEDER. "Unión Europea. Una manera de hacer Europea" and the support of La Generalitat de Catalunya to the group of Child and Adolescent Psychiatry and Psychology (2009 SGR 1119).

References

- Birmaher B, Ryan ND, Williamson DE, Brent DA, Kaufman J, Dahl R, et al. (1996). Childhood and adolescent depression: a review of the past 10 years: part I. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 35: 1427-1439.
- Birmaher B, Arbelaez C, Brent D (2002). Course and outcome of child and adolescent major depressive disorder. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 11: 619-637.
- Birmaher B, Khetarpal S, Brent D, Cully M, Balach L, Kaufman J, et al. (1997). The Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders (SCARED): scale construction and psychometric characteristics. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 36: 545-553.
- Blázquez A, Mas S, Plana MT, Lafuente A, Lázaro L (2012). Fluoxetine pharmacogenetics in child and adult populations. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 21: 599-610.
- Blázquez A, Mas S, Plana MT, Gassó P, Méndez I, Torra M, et al. (2014). Plasma fluoxetine concentrations and clinical improvement in an adolescent sample diagnosed with major depressive disorder, obsessive-compulsive disorder, or generalized anxiety disorder. *J Clin Psychopharmacol* 34: 318-326.
- Boiso Moreno S, Zackrisson AL, Jakobsen Falk I, Karlsson L, Carlsson B, Tillmar A, et al. (2013). ABCB1 gene polymorphisms are associated with suicide in forensic autopsies. *Pharmacogenet Genomics* 23: 463-469.
- Carr A (2008). Depression in young people: description, assessment and evidence-based treatment. *Dev Neurorehabil* 11: 3-15.
- Charlier C, Broly F, Lhermitte M, Pinto E, Ansseau M, Plomteaux G (2003). Polymorphisms in the CYP2D6 Gene: Association with plasma concentrations of fluoxetine and paroxetine. *Ther Drug Monit* 25: 738-742.
- Costello E, Pine DS, Hammen C, March JS, Plotsky PM, Weissman MM, et al. (2002). Development and natural history of mood disorders. *Biol Psychiatry* 52: 529-542.

- DeVane CL (1999). Metabolism and pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Cell Mol Neurobiol* 19: 443-466.
- Dong C, Wong ML, Licinio J (2009). Sequence variations of ABCB1, SLC6A2, SLC6A3, SLC6A4, CREB1, CRHR1 and NTRK2: association with major depression and antidepressant response in Mexican-Americans. *Mol Psychiatry* 14: 1105-1118.
- Dopheide JA (2006). Recognizing and treating depression in children and adolescents. *Am J Health Syst Pharm* 63: 233-243.
- Dunn V, Goodyer IM (2006). Longitudinal investigation into childhood and adolescence-onset depression: psychiatric outcome in early adulthood. *Br J Psychiatry* 188: 216-222.
- Emslie GJ (2008). Improving outcome in pediatric depression. *Am J Psychiatry* 165: 1-3.
- Emslie GJ, Heiligenstein JH, Hoog SL, Wagner KD, Findling RL, McCracken JT, et al. (2004). Fluoxetine treatment for prevention of relapse of depression in children and adolescents: a double-blind, placebo-controlled study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 43: 1397-1405.
- Emslie GJ, Heiligenstein JH, Wagner KD, Hoog SL, Ernest DE, Brown E, et al. (2002). Fluoxetine for acute treatment of depression in children and adolescents: a placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 24: 377-383.
- Emslie GJ, Kennard BD, Mayes TL, Nightingale-Teresi J, Camody T, Hughes CW, et al. (2008). Fluoxetine versus placebo in preventing relapse of major depression in children and adolescents. *Am J Psychiatry* 165: 459-467.
- Emslie GJ, Rush AJ, Weinberg WA, Kowatch RA, Carmody T, Mayes TL (1998). Fluoxetine in child and adolescent depression: acute and maintenance treatment. *Depress Anxiety* 7: 32-39.
- Essau CA (2007). Course and outcome of major depressive disorder in non-referred adolescents. *J Affect Disord* 99: 191-201.

- Foa EB, Coles M, Huppert JD, Pasupuleti RV, Franklin ME, March J (2010). Development and validation of a child version of the obsessive compulsive inventory. *Behav Ther* 41:121-132.
- Fombonne E, Wostear G, Cooper V, Rutter M (2001). The Maudsley long term follow up of child and adolescent depression. Psychiatric outcomes in adulthood. *Br J Psychiatry* 179: 210-217.
- Frank E, Prien RF, Jarrett RB, Keller MB, Kupfer DJ, Lavori PW, et al. (1991). Conceptualization and rationale for consensus definitions of terms in major depressive disorder. Remission, recovery, relapse, and recurrence. *Arch Gen Psychiatry* 48: 851-855.
- Fu Q, Heath AC, Bucholz KK, Nelson EC, Glowinski AL, Goldberg J, et al. (2002). A twin study of genetic and environmental influences on suicidality in men. *Psychol Med* 32: 11-24.
- Gassó P, Rodríguez N, Mas S, Pagerols M, Blázquez A, Plana MT, et al. (2014). Effect of CYP2D6, CYP2C9 and ABCB1 genotypes on fluoxetine plasma concentrations and clinical improvement in children and adolescent patients. *Pharmacogenomics J* doi: 10.1038/tpj.2014.12.
- Geller B, Zimmerman B, Williams M, Bolhofner K, Craney JL (2001). Adult psychosocial outcome of prepubertal major depressive disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 40: 673-677.
- Gledhill J, Garralda ME (2011). The short-term outcome of depressive disorder in adolescents attending primary care: a cohort study. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 46: 993-1002.
- Glied S, Pine DS (2002). Consequences and correlates of adolescent depression. *Arch Pediatr Adolesc Med* 156: 1009-1014.

- Gould MS, Velting D, Kleinman M, Lucas C, Thomas JG, Chung M (2004). Teenagers' attitudes about coping strategies and help-seeking behavior for suicidality. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 43: 1124-1133.
- Guy, W (1976). *ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology, Revised*. Bethesda, MD: United States Department of Health, Education, and Welfare.
- Harrington R, Fudge H, Rutter M, Pickles A, Hill, J (1991). Adult outcomes of childhood and adolescent depression: I. Psychiatric status. *Arch Gen Psychiatry* 47: 465-473.
- Höfer P, Schosser A, Calati R, Serretti A, Massat I, Kocabas NA, et al. (2013). The impact of cytochrome P450 CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes on suicide attempt and suicide risk- a European multicentre study on treatment-resistant major depressive disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 263: 385-391.
- Kato M., Serretti A. Review and meta-analysis of antidepressant pharmacogenetic findings in major depressive disorder (2010). *Mol Psychiatry* 15: 473-500.
- Kaufman J, Birmaher B, Brent D, Rao U, Flynn C, Moreci P, et al. (1997). Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime Version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 36: 980-988.
- Kennard BD, Emslie GJ, Mayes TL, Hughes JL (2006). Relapse and recurrence in pediatric depression. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 15: 1057-1079.
- Kennard BD, Silva SG, Tonev S, Rohde P, Hughes JL, Vitiello B, et al. (2009). Remission and recovery in the treatment for adolescents with depression study (TADS): acute and long-term outcomes. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 48: 186-195
- Kovacs, M (1992). *Children's Depression Inventory manual*. New York: Multi-Health Systems.

- Kronenberg S, Frisch A, Rotberg B, Carmel M, Apter A, Weizman A (2008). Pharmacogenetics of selective serotonin reuptake inhibitors in paediatric depression and anxiety. *Pharmacogenomics* 9: 1725-1736.
- Kovacs M, Gatsonis C, Paulauskas SL, Richards C (1989). Depressive disorders in childhood: IV. A longitudinal study of comorbidity with and risk for anxiety disorders. *Arch Gen Psychiatry* 46: 776-782.
- Kovacs M, Goldston D, Gatsonis C (1993). Suicidal behaviors and childhood-onset depressive disorders: a longitudinal investigation. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 32: 8-20.
- Lau JY, Eley TC (2008). Disentangling gene-environment correlations and interactions on adolescent depressive symptoms. *J Child Psychol Psychiatry* 49: 142-150.
- Lewinsohn PM, Clarke GN, Seeley JR, Rohde P (1994). Major depression in community adolescents: age at onset, episode duration and time to recurrence. *Acad Child Adolesc Psychiatry* 33: 809-818.
- Lewinsohn PM, Allen NB, Seeley JR, Gotlib IH (1999). First onset versus recurrence of depression: differential processes of psychosocial risk. *J Abnorm Psychol* 108:483-489.
- Llerena A, Dorado P, Berecz R, González AP, Peñas-Lledó EM (2004). Effect of CYP2D6 and CYP2C9 genotypes on fluoxetine and norfluoxetine plasma concentrations during steady-state conditions. *Eur J Clin Pharmacol* 59: 869-873.
- Luborsky L (1962). Clinician's judgments of mental health: A proposed scale. *Arch Gen Psychiatry* 7: 407-417.
- March J, Silva S, Vitiello B (2006). The Treatment for Adolescents with Depression Study (TADS): methods and message at 12 weeks. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 45:1393-1403.

- Menu P, Gressier F, Verstuyft C, Hardy P, Becquemont L, Corruble E (2010). Antidepressants and ABCB1 gene C3435T functional polymorphism: a naturalistic study. *Neuropsychobiology* 62: 193-197.
- Peñas-Lledó EM, Blasco-Fontecilla H, Dorado P, Vaquero-Lorenzo C, Baca-García E, Llerena A (2012). CYP2D6 and the severity of suicide attempts. *Pharmacogenomics* 13: 179-184.
- Pine DS, Cohen P, Johnson JG, Brook JS (2002). Adolescent life events as predictors of adult depression. *J Affect Disord* 68: 49-57.
- Serretti A, Calati R, Massat I, Linotte S, Kasper S, Lecubrier Y, et al. (2009). Cytochrome P450, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes are not associated with the response and remission in a sample of depressive patients. *Int Clin Psychopharmacol* 24: 250-256
- Scordo MG, Caputi AP, D'Arrigo C, Fava G, Spina E (2004). Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population. *Pharmacol Res* 50: 195-200.
- Scordo MG, Spina E, Dahl ML, Gatti G, Perucca E (2005). Influence of CYP2C9, 2C19 and D6 Genetic polymorphisms on the Steady-State plasma concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 97: 296-301.
- Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H, et al. (1983). A children's global assessment scale (CGAS). *Arch Gen Psychiatry* 40: 1228-1231.
- Silberg J, Rutter M, Neale M, Eaves L (2001). Genetic moderation of environmental risk for depression and anxiety in adolescent girls. *Br J Psychiatry* 179: 116-121.
- Singh AB, Bousman CA, Ng CH, Byron K, Berk M (2012). ABCB1 polymorphism predicts escitalopram dose needed for remission in major depression. *Transl Psychiatry* doi: 10.1038/tp.2012.115.

- Thapar A, Collishaw S, Pine DS, Thapar AK (2012). Depression in adolescence. *Lancet* 379: 1056-1067.
- Thase ME (2006). Preventing relapse and recurrence of depression: a brief review of therapeutic options. *CNS Spectr Suppl* 15: 12-21.
- Treatment for Adolescents with Depression Study Team (2009). The treatment for adolescents with depression study (TADS): outcomes over 1 year of naturalistic follow-up. *Am J Psychiatry* 166: 1141-1149.
- Tsapakis EM, Soldani F, Tondo L, Baldessarini RJ (2008). Efficacy of antidepressants in juvenile depression: meta-analysis. *Br J Psychiatry* 193: 10-17.
- Ulloa RE, Ortiz S, Higuera F, Nogales I, Fresán A, Apiquian R, et al. (2006). [Interrater reliability of the Spanish version of Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Present and Lifetime version (K-SADS-PL)]. *Actas Esp Psiquiatr* 34: 36-40.
- Usala T, Clavenna A, Zuddas A, Bonati M (2008). Randomised controlled trials of selective serotonin reuptake inhibitors in treating depression in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Eur Neuropsychopharmacol* 18: 62-73.
- Williams JMG, Crane C, Barnhofer T, Van der Does AJW, Segal ZV (2006). Recurrence of suicidal ideation across depressive episodes. *J Affect Disord* 91: 189-194.
- Zhou SF (2009). Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part II. *Clin Pharmacokinet* 48: 761-804.

Table(s)

Table 1. Differences between the followed-up sample and those not followed-up

| | Collaboration at the Study | | p |
|-----------------------|----------------------------|------------------|--------------------|
| | Yes | No | |
| | 46 subjects | 8 subjects | |
| Age at Baseline | 14.96 (SD= 1.74) | 14.78 (SD= 1.78) | 0.467* |
| Gender | Number (%) | Number (%) | |
| Male | 10 (21.7) | 3 (37.5) | 0.382 ^b |
| Female | 36 (78.3) | 5 (62.5) | |
| Comorbid Diagnoses | Number (%) | Number (%) | |
| Anxiety Disorders | 22/46 (47.8) | 6/8 (75.0) | 0.253 ^b |
| Eating Disorders | 19/46 (41.3) | 1/8 (12.5) | 0.234 ^b |
| Disruptive Disorders | 4/46 (8.7) | 1/8 (12.5) | 0.567 ^b |
| Non Comorbid Diagnose | 1/46 (2.2) | 0/8 (0.0) | 1.000 ^b |
| FLX Dose Week 12 | 21.82 (SD= 8.42) | 21.25 (SD= 8.34) | 0.798* |
| CDI at Baseline | 28.17 (SD= 7.93) | 29.75 (SD= 6.29) | 0.286* |
| CGI at Baseline | 4.89 (SD= 0.93) | 4.88 (SD= 0.84) | 0.526* |

* Student T test

^b Chi-squared test

Table 2. Variables at baseline, 3 months, and 12 months

| | Baseline Mean (SD) | 3 months Mean (SD) | 12 months Mean (SD) | 12 months-baseline Z ^a | p |
|-----------------|--------------------|--------------------|---------------------|-----------------------------------|-------|
| Fluoxetine Dose | 20.71 (6.47) | 21.82 (8.43) | 21.96 (16.81) | -0.62 | 0.951 |
| CDI | 28.17 (7.93) | 18.02 (10.24) | 15.63 (10.98) | -5.51 | 0.000 |
| CGI | 4.89 (0.93) | 3.14 (0.88) | 2.70 (1.47) | -5.29 | 0.000 |
| CGAS | 44.70 (12.71) | 63.50 (10.81) | 68.17 (15.59) | -5.33 | 0.000 |

^a Wilcoxon test

Table 3. Clinical variables in remitted versus non-remitted patients and recovered versus non-recovered patients

| Variables | Non remitted n=14 | | Remitted n=32 | | t | p ^a | Non recovered n=20 | | Recovered n=26 | | t | p ^a |
|------------------------------|----------------------|-------|------------------|-------|-------|----------------|-----------------------|-------|-------------------|-------|-------|----------------|
| | Mean | SD | Mean | SD | | | Mean | SD | Mean | SD | | |
| Age | 15.71 | 1.59 | 16.00 | 1.90 | 0.68 | 0.500 | 15.65 | 1.87 | 16.12 | 1.75 | -0.86 | 0.390 |
| Age of Onset | 13.79 | 2.26 | 14.31 | 1.81 | 0.84 | 0.404 | 13.75 | 2.24 | 14.46 | 1.65 | -1.24 | 0.222 |
| Fluoxetine Dose at Baseline | 20.92 | 7.37 | 20.63 | 6.19 | -0.14 | 0.890 | 22.21 | 7.71 | 19.62 | 5.26 | -1.34 | 0.187 |
| Fluoxetine Dose at 12 Months | 22.14 | 20.07 | 21.88 | 15.54 | -0.05 | 0.961 | 26.00 | 19.30 | 18.85 | 14.23 | -1.48 | 0.137 |
| Number of Readmissions | 1.87 | 2.07 | 0.28 | 0.88 | -3.64 | 0.001 | 1.30 | 1.92 | 0.35 | 0.98 | 2.19 | 0.034 |
| Weeks Readmitted | 6.90 | 8.97 | 0.66 | 1.79 | -3.81 | 0.000 | 5.03 | 8.07 | 0.66 | 1.67 | 2.69 | 0.010 |
| Number of Suicide Attempts | 1.00 | 1.52 | 0.28 | 0.73 | -2.18 | 0.034 | 1.00 | 1.41 | 0.12 | 0.43 | 3.02 | 0.004 |
| CDI at Baseline | 32.14 | 5.98 | 26.44 | 8.15 | -2.35 | 0.023 | 31.65 | 4.86 | 25.50 | 8.84 | 2.79 | 0.006 |
| CDI at 12 Months | 26.36 | 9.59 | 10.94 | 7.85 | -5.68 | 0.000 | 23.65 | 9.10 | 9.46 | 7.93 | 5.61 | 0.000 |
| CGI at Baseline | 5.07 | 0.92 | 4.81 | 0.93 | -0.87 | 0.388 | 5.05 | 0.83 | 4.77 | 0.99 | 1.02 | 0.313 |
| CGI at 12 Months | 4.29 | 1.20 | 2.03 | 1.35 | -5.36 | 0.000 | 4.29 | 1.20 | 2.03 | 1.35 | -5.36 | 0.000 |
| GAF at Baseline | 40.29 | 14.92 | 46.63 | 11.34 | 1.58 | 0.121 | 40.29 | 14.92 | 46.63 | 11.34 | 1.58 | 0.121 |
| GAF at 12 Months | 54.57 | 11.51 | 74.13 | 13.30 | 4.67 | 0.000 | 54.57 | 11.51 | 74.13 | 13.30 | 4.67 | 0.000 |

^a Student T test

Table 4. Distribution of CYP2D6, CYP2C9, and ABCB1 genotypes

| Genotype Groups | Non Remitted n=14 n (%) | Remitted n=32 n (%) | Non Recovered n=20 n (%) | Recovered n=26 n (%) |
|---------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| CYP2D6 | | | | |
| EM+UM | 9 (64.3%) | 23 (71.9%) | 13 (65.0%) | 19 (73.1%) |
| IM + PM | 5 (35.7%) | 9 (28.1%) | 7 (35.0%) | 7 (26.9%) |
| CYP2C9 | | | | |
| EM | 10 (71.4%) | 24 (75.0%) | 12 (60.0%) | 22 (84.6%) |
| Non-EM (IM +PM) | 4 (28.6%) | 8 (25.0%) | 8 (40.0%) | 4 (15.4%) |
| ABCB1 G2677T | | | | |
| GG | 6 (42.9%) | 14 (43.8%) | 8 (40.0%) | 12 (46.2%) |
| GT or TT | 8 (57.1%) | 18 (56.3%) | 12 (60.0%) | 14 (53.8%) |
| ABCB1 C3435T | | | | |
| CC | 4 (28.6%) | 11 (34.4%) | 6 (30.0%) | 9 (34.6%) |
| CT or TT | 10 (71.4%) | 21 (65.6%) | 14 (70.0%) | 17 (65.4%) |

Abbreviations: PM, poor metabolizer; IM, intermediate metabolizer; EM, extensive metabolizer; UM, ultrarapid metabolizer. ¹ CYP2D6 genotypes included in each group: IM, *1/*3 or *1/*4 or *1/*5 or *1/*6; EM, *1/*1; UM, *1x2/*1). ² CYP2C9 genotypes included in each group: PM, *2/*3 or *3/*3; IM, *1/*2 or *1/*3; EM, *1/*1.

5.DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

El presente trabajo es el primer estudio en el que se ha evaluado en una población infantil y juvenil los niveles plasmáticos de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX y FLX/NORFLX en condiciones de equilibrio en 2 momentos del tratamiento (semanas 8 y 12). Además se ha estudiado la relación entre las concentraciones plasmáticas de FLX corregidas por dosis y la mejoría clínica y/o los efectos secundarios al tratamiento. También se trata del primer estudio en que se examina el efecto de variantes genéticas de *CYP2D6*, *CYP2C9* y *ABCB1* en la farmacocinética y la respuesta a FLX (en una población infantil y juvenil) y en las recaídas y en la remisión de un episodio depresivo mayor.

La dosis media de FLX (22,65mg/día) y la concentración media de la fracción activa de FLX (FLX+NORFLX) (207 ± 159 ng/ml) fueron parecidas a las observadas en un estudio previo realizado en población infanto-juvenil [110], estando ésta última dentro del rango recomendado en adultos (120–300 ng/ml) [103]. En relación a las concentraciones plasmáticas de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX y FLX/NORFLX se encontró gran variabilidad interindividual, tal y como había sido publicado previamente en la literatura [58, 99]. En nuestro estudio encontramos que factores tales como el sexo, la masa corporal o el diagnóstico podrían estar implicados en esta variabilidad, mientras que la edad no lo estaría.

Con respecto al sexo, encontramos que el sexo masculino requirió de menos dosis de FLX y las concentraciones plasmáticas de FLX, NORFLX, y FLX+NORFLX fueron significativamente más bajas que en el sexo femenino. Estudios previos en ratas han demostrado que las hembras metabolizan más rápidamente la FLX, teniendo también niveles más elevados de NORFLX tanto en plasma como en cerebro [127-128]. En estudios con humanos, se ha visto también que el sexo femenino suele requerir de dosis mayores de FLX una vez corregido por edad y masa corporal [129]. Las fluctuaciones hormonales que se producen durante el ciclo menstrual son una causa documentada de diferencias en la farmacocinética y farmacodinamia de los fármacos [130]. Los estrógenos por ejemplo, pueden aumentar los efectos antidepresivos de la FLX [131]. Durante el ciclo menstrual se producen además otros cambios a nivel inmunológico, renal, cardiovascular y hematológico, que pueden influir en la absorción, metabolismo, distribución y/o excreción del fármaco [132]. Así mismo, diferencias en la expresión de los enzimas metabólicos de la familia CYP450 pueden influir en esta variabilidad, encontrándose para algunos CYPs una actividad reducida en el sexo

femenino, hecho que lo haría más sensible a presentar efectos secundarios al tratamiento [130-134].

En cuanto al peso corporal, encontramos relación entre la dosis de FLX por kilogramo de peso y las concentraciones plasmáticas de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX y FLX/NORFLX en las semanas 8 y 12 de tratamiento. En un estudio previo en población infantil y juvenil solo se encontró relación entre la dosis de FLX por kilo de peso y las concentraciones plasmáticas de FLX [110]. En otro estudio previo [106] concluyeron que el peso corporal influía en las concentraciones plasmáticas, siendo más altas en niños que adolescentes. Es importante por tanto, tenerlo en cuenta a la hora de iniciar un tratamiento, recomendándose en niños iniciar la FLX a razón de 10mg/día.

En relación al diagnóstico, en la semana 8 de tratamiento no encontramos diferencias en las dosis ni en los niveles plasmáticos entre los 3 grupos diagnósticos (TDM, TOC y TAG), pero sí encontramos diferencias en cuanto a la dosis en la semana 12, requiriendo los pacientes con TOC dosis mayores de fármaco. Los presentes resultados se deben probablemente a la dosificación del tratamiento siguiendo las guías de práctica clínica [18, 19, 36, 47]. En el caso del TOC, se recomienda iniciar el tratamiento a dosis de 20mg/día, pudiendo incrementarse la dosis semanalmente, si no se observa mejoría, hasta un máximo de 60mg/día [135]. En la literatura, la mayoría de estudios recogen dosis medias de 40-60mg/día de FLX en pacientes con TOC, dependiendo la dosificación, de los efectos secundarios al tratamiento y teniendo en cuenta la edad del paciente. No obstante, dosis altas de FLX (>60mg/día) suelen ser generalmente bien toleradas [37, 136].

Respecto a la edad, se relacionó con las concentraciones de FLX, por lo que no parece influir en la variabilidad. En un estudio previo llevado a cabo por Wilens y col. (2002) [107], se observó que una vez normalizadas las dosis por masa corporal, la edad no influía en esta variabilidad. En estudios en edad adulta se ha visto que al tener una vida larga de eliminación y una cinética no lineal, se recomienda iniciar el tratamiento a dosis bajas en pacientes de edad avanzada [86].

En nuestro estudio no hallamos correlación entre mejoría clínica y concentraciones plasmáticas de FLX a pesar de haber analizado las muestras en estado de equilibrio y haber corregido por dosis. Estudios previos en población adulta [103, 106] e infantil y juvenil [110] habían encontrado resultados similares. Debe haber entonces otros factores implicados en la mejoría clínica. Entre estos factores podrían encontrarse el sexo, estresores ambientales,

el soporte familiar, la comorbilidad con otros trastornos y factores genéticos implicados en la farmacocinética y farmacodinamia del fármaco. En relación a los estresores, se ha visto que la respuesta al tratamiento varía en función del evento traumático sufrido [137]. Desde el estudio de 2003 de Caspi et al., existe evidencia creciente de que tener una determinada predisposición genética y estar sometido a maltrato durante la infancia, produce cambios epigenéticos que influyen en el desarrollo de una enfermedad y en la respuesta al tratamiento [138]. También se ha demostrado, que los tratamientos son menos eficaces en aquellos adolescentes en los que no es posible implicar a los padres en el tratamiento o en aquellos en que en la familia existe problemática en la resolución de conflictos, el soporte o el refuerzo positivo, cronificándose los trastornos, en este grupo de pacientes [139]. Otro aspecto a tener en cuenta es la adaptación social o escolar. Diversos estudios recogen que el estar sometido a algún tipo de acoso escolar puede afectar en el rendimiento académico y a la hora de establecer relaciones con iguales, produciendo síntomas ansiosos y depresivos, que pueden cronificarse a pesar del tratamiento pautado, si estos no son abordados [140]. La comorbilidad con otros trastornos también influye en la mejoría clínica, ya que puede dificultar el abordaje terapéutico [141].

Cuando dividimos la muestra por diagnósticos y valoramos diferencias entre respondedores y no respondedores al tratamiento, tampoco encontramos diferencias entre los respondedores/no respondedores y las concentraciones plasmáticas de FLX, NORFLX, FLX+NORFLX, FLX/NORFLX, que fueron parecidas en ambos grupos. El resultado fue congruente con estudios previos en población adulta [103, 106]. Estos estudios justificaban sus resultados a que las dosis de tratamiento eran fijas y por tanto similares entre respondedores y no respondedores y que tal vez el período de evaluación (entre 8-12 semanas) era insuficiente. En nuestro estudio a pesar de tener dosis diferentes, tampoco hayamos diferencias. Estudios futuros deberían hacer hincapié en otras causas que puedan influir en la respuesta al tratamiento, hipotetizándose que tal vez aspectos como la comorbilidad con otros trastornos, los estresores ambientales o factores genéticos pueden influir en la respuesta al tratamiento.

En cuanto a los efectos secundarios, se presentaron en un 28% de los pacientes (porcentaje similar a un estudio previo en población infantil y juvenil, en que fue del 31% [110]), siendo en general un tratamiento bien tolerado. No obstante, es importante monitorizar los efectos secundarios al tratamiento, especialmente los relacionados con ideación autolítica y conducta suicida. Con respecto a su relación con las concentraciones

plasmáticas de FLX corregidas por dosis, no hallamos correlación. Por tanto, en el riesgo de sufrir efectos secundarios, no debe tenerse en cuenta solo la dosificación, sino otros aspectos individuales que deben predisponer a dichos efectos. Entre estos aspectos individuales, debería tenerse en cuenta la función hepática y la función renal [86].

Respecto a la influencia que pudieran tener las variantes genéticas del *CYP2D6*, *CYP2C9* y el *ABCB1* en la gran variabilidad interindividual en las concentraciones plasmáticas de FLX, los resultados de nuestro estudio confirman la influencia de polimorfismos genéticos del *CYP2D6* en la ratio plasmática de FLX/NORFLX y sugieren que variantes genéticas del *ABCB1* pueden estar implicadas en la mejoría clínica.

Los polimorfismos que incrementan o disminuyen la capacidad metabólica del *CYP2D6* se asociaron con una disminución o un incremento de la ratio FLX/NORFLX, respectivamente. Esto ha sido encontrado previamente en estudios llevados a cabo en adultos. En el estudio de Llerena y col. (2004) [99] la ratio FLX/NORFLX se correlacionó con variantes genéticas del *CYP2D6*, estando influida la concentración plasmática de FLX por el número de genes activos del *CYP2D6*. Más tarde, en otro estudio, también se observó que la ratio FLX/NORFLX era significativamente mayor en homocigotos EM que en heterocigotos, mientras que era muy bajo en los PM, sugiriendo por tanto el papel del *CYP2D6* en la conversión de FLX en NORFLX [58].

Aunque en el estudio de Llerena y cols. (2004) [99], los resultados sugieren implicación de polimorfismos genéticos en *CYP2C9* en el metabolismo de la FLX, nosotros no hallamos dicha implicación. De hecho, los resultados de Grasmäder y cols. (2004) mostraron que los genotipos del *CYP2C9* no estaban implicados en la determinación de las concentraciones plasmáticas de otros antidepresivos de segunda generación [142].

En contra de nuestra hipótesis inicial, no hemos podido demostrar que las variantes genéticas en *CYP2D6* y el *CYP2C9* influyan en la variabilidad de respuesta al tratamiento, siendo el resultado congruente con un estudio previo [143] en el que las mismas variantes alélicas del *CYP2D6* y el *CYP2C9* fueron estudiadas con diversos antidepresivos, concluyéndose que su conocimiento no es útil para predecir la respuesta al tratamiento antidepresivo.

Por otra parte, tampoco encontramos ninguna asociación significativa entre los polimorfismos del *ABCB1* y los niveles plasmáticos de FLX o su metabolito activo, aunque sí parecen tener un efecto en la respuesta al tratamiento. Existen evidencias previas de que las concentraciones plasmáticas tanto de los enantiómeros individuales como de la fracción activa

no están asociadas a una mejor respuesta al tratamiento [144]. De hecho, los resultados de nuestro grupo apoyarían también esta hipótesis. Esto sugiere que las concentraciones plasmáticas pueden no estar relacionadas con las concentraciones intracerebrales de los antidepresivos y por lo tanto con su eficacia clínica [145]. Sin embargo, está claro el papel de la glicoproteína-P en la limitación de las concentraciones intracerebrales de muchos fármacos, incluidos los antidepresivos [78, 79, 146], lo cual consecuentemente podría limitar la respuesta clínica.

En nuestro estudio el polimorfismo no sinónimo G2677T del *ABCB1* se ha asociado con la mejoría clínica después del tratamiento con fluoxetina. Nuestros resultados son robustos ya que se han encontrado asociaciones para la mayoría de las escalas evaluadas. Este mismo polimorfismo y otros se han asociado previamente con la eficacia de diferentes antidepresivos [146-150]. Curiosamente, los resultados obtenidos en ratones indican que la fluoxetina puede no ser un sustrato de la glicoproteína-P [151]. Sin embargo, nuestros resultados parecen apoyar el papel de este transportador en la biodisponibilidad de la fluoxetina en el cerebro humano. Es posible que los medicamentos actualmente incluidos en el grupo de los no sustratos de la glicoproteína-P no estén en realidad correctamente clasificados [152]. Esto podría explicar también otros resultados, como una asociación previa de polimorfismos en *ABCB1* y la respuesta antidepresiva en pacientes tratados con fluoxetina o desmipramina [101], así como también los resultados obtenidos por Noodman y col. [152] que muestran una asociación entre variaciones genéticas en *ABCB1* y riesgo de cambio y/o suspensión del tratamiento antidepresivo, el cual no estaba limitado a antidepresivos que son sustratos de la glicoproteína-P. No obstante, existen otros estudios en los que la asociación con la respuesta clínica sólo se daba con antidepresivos que sí son sustratos transportados [147, 149]. En el supuesto de que realmente la fluoxetina no sea transportada por la glicoproteína-P en los seres humanos, los resultados encontrados aquí pueden mostrar una asociación entre la variante genética del *ABCB1* y la mejoría clínica que sería independiente del tipo de antidepresivo utilizado. Curiosamente, polimorfismos en *ABCB1* se han asociado recientemente con trastornos del estado de ánimo incluyendo la depresión [101, 153]. La glicoproteína-P no sólo protege el cerebro de muchos fármacos sino también de otras sustancias neurotóxicas como los glucocorticoides, que pueden producir daño cerebral y causar depresión [154]. Una disminución de la función de la glicoproteína-P en la barrera hematoencefálica puede aumentar la acumulación de toxinas en el cerebro, lo cual podría estar implicado no sólo en la fisiopatología de los trastornos del estado de ánimo, sino también

en la peor respuesta a los fármacos antidepresivos, independientemente de si son o no sustratos de este transportador.

Con respecto al seguimiento de pacientes con TDM a 1 año, encontramos una tasa de remisión del 69,5%, congruente con lo publicado en la literatura. Los estudios longitudinales tanto en muestras comunitarias como clínicas sugieren que el 60-90% de los episodios depresivos remiten al año [155, 156]. En las muestras comunitarias el porcentaje de remisión estaría más próximo al 90% a los 3 años, mientras que en las clínicas estaría más próximo al 50%. Esto se explicaría por menor severidad de los episodios en muestras comunitarias, presentando estos ausencia de tentativas suicidas y de síntomas psicóticos asociados [155]. En estudios de seguimiento a 5 años, se ha visto que entre un 50-70% de los pacientes que presentaron remisión sufren un nuevo episodio depresivo [155, 157]. Además, en población adulta se ha visto que muchos pacientes continúan teniendo síntomas residuales entre los episodios depresivos [158, 159]. En los pacientes en que los síntomas persisten en el tiempo, generalmente el episodio depresivo se acompaña de otro trastorno comórbido, de ideas suicidas o de dependencia de sustancias. Con el fin de prevenir nuevos episodios depresivos es importante mantener el tratamiento con FLX después de la fase aguda del episodio depresivo [160, 161]. Existen en la literatura pocos estudios en que se evalúe la eficacia de mantener el tratamiento antidepresivo a medio plazo. La mayoría de los estudios son como el nuestro, un seguimiento de tipo naturalístico. Como estudio naturalístico previo encontramos el "Treatment for adolescents with depression study" (TADS; 2009). El equipo TADS, evaluó inicialmente la efectividad de realizar tratamiento con FLX, terapia cognitivo-conductual o su combinación en la fase aguda de la enfermedad (12 semanas), concluyendo que en episodios moderados y severos era útil tanto la FLX en monoterapia como su combinación con terapia cognitivo-conductual. A las 36 semanas evaluaron la remisión, encontrando una tasa del 55% en pacientes tratados solo con FLX y 60% en pacientes que realizaron tratamiento combinado, concluyéndose que lo más eficaz era realizar tratamiento combinado con FLX y terapia cognitivo-conductual con respecto a realizar solo una de las 2 modalidades [160, 162].

En relación a la recuperación, nuestros resultados mostraron que un 43,5% de los pacientes continuaban deprimidos al año de la entrevista basal. En la literatura la tasa encontrada es algo menor (entre 21-41%) [163, 164]. En el presente estudio observamos que en aquellos pacientes en los que no hay recuperación ni remisión al año han requerido más

ingresos hospitalarios, han realizado más tentativas suicidas y puntúan más alto en las escalas CGI y CDI al año. Los resultados son congruentes con la literatura previa [163-166]. El obtener estos resultados, se debe a que el presente estudio está realizado principalmente en una muestra de pacientes hospitalizados (67,4%). Esto significa que en el momento en que fueron incluidos eran pacientes con episodio depresivo grave, presentando los pacientes ideación autolítica y/o síntomas psicóticos asociados. En línea con estudios previos, los adolescentes con depresión presentan afectación en múltiples ámbitos, tales como el académico o el familiar [168, 169]. Diversos factores se han asociado a un peor curso del episodio depresivo mayor. Entre estos factores encontramos los sociodemográficos como la edad y el sexo [168], factores cognitivos como sentimientos de desesperanza y culpa [143], la comorbilidad con otros trastornos psiquiátricos y estresores psicosociales como el abuso sexual o la historia familiar de TDM [141]. En estudios previos también se ha asociado el curso del TDM con los antecedentes familiares de TDM [169], resultado que no encontramos en nuestro estudio ni en otro previo [168].

No encontramos asociación entre las variantes genéticas del *CYP2D6* y *CYP2C9* y la recuperación y remisión de un episodio depresivo. Parece ser, que el conocimiento del estatus metabólico del citocromo P450 no nos sería útil para predecir ni remisión ni recuperación. Como en el caso de la respuesta al tratamiento, debe de haber otros factores que modulen la remisión/recuperación. Entre estos factores estarían el estar sometido a estresores ambientales, el soporte familiar y la adaptación social, la comorbilidad con otros trastornos y probablemente también otros factores genéticos, como los implicados a nivel farmacodinámico [52, 170].

Respecto al suicidio, en muchos estudios se ha asociado a TDM. Estudios en gemelos sugieren que el suicidio tiene una base genética [169]. Un estudio llevado a cabo por Zackrisson y cols. (2010) observó que en los pacientes UM había más suicidios [170], hecho que fue comprobado más tarde por Peñas-Lledó y cols. (2012), en que encontraron que los portadores de más de 2 genes activos del *CYP2D6* realizaban tentativas suicidas más graves, proponiéndose que la actividad del *CYP2D6* podía ser un biomarcador de conducta suicida [173]. Además, sugerían que al metabolizarse los ISRS por esta vía, no serían el tratamiento efectivo para prevenir conducta suicida. El estudio llevado por Höffer y cols. (2013) y el nuestro no fueron capaces de replicar estos resultados [174]. Una probable explicación para nuestros resultados sea que no se ha evaluado con un instrumento específico la ideación suicida (en estudios anteriores utilizaron escalas de suicidio).

Respecto a los polimorfismos del *ABCB1*, a pesar de asociarse con respuesta al tratamiento, no encontramos su asociación con recuperación ni con remisión. La literatura sobre este tema es escasa. Solo existe un estudio previo de Singh y col. (2012) [101] en el que encuentran relación entre la dosis antidepressiva y la remisión depresiva. Cabe remarcar que en este estudio en realidad examinan respuesta al tratamiento y no remisión, por lo cual habría que plantear para futuros estudios la forma más adecuada de medir remisión. Tampoco encontramos relación con conducta suicida. Previo a nuestro estudio, la variante 3435T del *ABCB1* se había asociado con susceptibilidad a TDM en pacientes japoneses [175] y Perroud y cols. (2011) observaron una correlación entre 2677G > T e ideación suicida mientras se realizaba tratamiento antidepressivo [176], sugiriéndose un asociación del *ABCB1* y la conducta suicida. El único estudio que hemos encontrado, se realiza en una muestra forense y sí encuentra frecuencias diferentes entre pacientes suicidas y no suicidas en 1236C > T, 2677G > T/A, y 34335C > T, en pacientes con TDM tratados con diversos antidepressivos [177]. Tal vez en nuestro caso, los resultados sean negativos debido al tamaño muestral o por el hecho de que en la mayoría de los casos el tratamiento fue solo con FLX.

Podemos concluir que en la variabilidad en las concentraciones plasmáticas de FLX en población infantil y juvenil podría influir el sexo y las variantes genéticas del *CYP2D6*, mientras que ni la edad, el diagnóstico, o las variantes genéticas del *CYP2C9* y del *ABCB1* parecen estar implicadas. Con respecto a la mejoría clínica, la respuesta al tratamiento o los efectos secundarios, no están influenciados por las concentraciones plasmáticas corregidas de FLX. En la mejoría clínica sí parece tener un papel el polimorfismo no sinónimo G2677T del *ABCB1*. En cuanto a la remisión y la recuperación del TDM no hemos encontrado factores asociados.

5.1-Limitaciones

Como principal limitación en los **estudios I y II** nos encontramos con que el pequeño tamaño muestral. Esto es debido a varios factores como el diseño del estudio, en el que solo incluimos pacientes caucásicos y a que los criterios en la decisión de iniciar tratamiento antidepressivo en población infantil y juvenil son muy estrictos. Esto también nos limita a la hora de dividir por diagnósticos y comparar entre los que responden al tratamiento y los que no, dificultando el poder generalizar los resultados obtenidos.

Otro factor a tener en cuenta son las probables interacciones farmacológicas con otras medicaciones, que como la FLX también se metabolizan vía *CYP2D6* (entre ellas la quetiapina o el aripiprazol) [65].

En relación al **estudio III** además de las limitaciones comentadas anteriormente, también hay que destacar que las escalas para medir remisión y recuperación sólo se administraron a nivel basal, en las semanas 8, 12 y a los 12 meses del tratamiento. Además al ser un estudio naturalístico no existía grupo control para estudiar diferencias en el curso del TDM con FLX o placebo.

Como puntos fuertes cabe destacar que es uno de los escasos estudios de farmacocinética en población infantil y juvenil con patología psiquiátrica. Además, destacar también que eran pacientes a los que se les prescribía por primera vez tratamiento con FLX.

7.CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

Las concentraciones plasmáticas de FLX en población infantil y juvenil son similares a las descritas en adultos.

Existe una gran variabilidad interindividual en población infantil y juvenil que parece estar en parte influida por el sexo.

Las concentraciones plasmáticas de FLX corregidas por dosis no correlacionan con la mejoría clínica ni con los efectos secundarios.

Se confirma la influencia de los polimorfismos genéticos del *CYP2D6* en la farmacocinética de la FLX. Por el contrario, variantes genéticas en el *CYP2C9* y el *ABCB1* no parecen tener ningún efecto.

El polimorfismo no sinónimo de G2677T del *ABCB1* está asociado a la mejoría clínica después del tratamiento con FLX. Por el contrario, variantes genéticas en el *CYP2D6* y *CYP2C9* no parecen tener ningún efecto. Los marcadores genéticos relacionados con la biodisponibilidad cerebral de FLX parecen ser mejores predictores de la respuesta antidepressiva que los relacionados con las concentraciones plasmáticas de este fármaco.

Respecto al seguimiento a un año de pacientes con TDM, la tasa de remisión (69,5%) y la de recuperación (43,5%) fueron similares a las descritas en la literatura.

Los pacientes que no presentaron remisión ni recuperación requirieron de más ingresos hospitalarios, realizaron más tentativas autolíticas y puntuaron peor en todas las escalas.

No existe correlación entre las variantes genéticas del *CYP2D6*, *CYP2C9* y *ABCB1* y la remisión/recuperación del TDM ni la conducta suicida

9. IMPLICACIONES CLÍNICAS Y DIRECCIONES FUTURAS

6. IMPLICACIONES CLÍNICAS Y DIRECCIONES FUTURAS.

- I. Medir las concentraciones plasmáticas de FLX parece no resultar de utilidad a la hora de valorar la mejoría clínica del paciente o los efectos secundarios al tratamiento.
- II. El conocimiento de las variantes genéticas del *CYP2D6* podría ser útil para predecir la farmacocinética de FLX de los pacientes, pero no para valorar la mejoría clínica del paciente o los efectos secundarios al tratamiento.
- III. Evaluar de las variantes genéticas del *ABCB1* puede ayudar a predecir la respuesta individual al tratamiento con FLX.
- IV. Serán necesarios estudios confirmativos con un mayor tamaño muestral con el fin de poder replicar los resultados presentados en esta tesis doctoral.
- V. Además, será importante llevar a cabo más estudios farmacogenéticos en los que se analice el papel que juega otros genes, como p.e. los implicados a nivel farmacodinámico, en la mejoría clínica de los pacientes tratados con FLX.
- VI. En un futuro, la creación de predictores de respuesta clínica basados en las características genéticas del paciente, ayudará a la implementación de terapias más personalizadas que serán más eficaces y seguras y que mejorarán en gran medida la calidad de vida del paciente.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Navarro-Pardo E, Meléndez Moral JC, Sales Galán A, Sancerni Beitia MD. Child and adolescent development: common mental disorders according to age and gender. *Psicothema* 2012; 24: 377-83.
2. Avenevoli S, Swendsen J, He JP, Burstein M, Merikangas KR. Major depression in the national comorbidity survey-adolescent supplement: prevalence, correlates and treatment. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2015; 54: 37-44.
3. Keeton CP, Kolos AC, Walkup JT. Pediatric generalized anxiety disorder: epidemiology, diagnosis and management. *Paediatr Drugs* 2009; 11: 171-83.
4. Carr A. Depression in young people: description, assessment and evidence-based treatment. *Dev Neurorehabil* 2008; 11: 3-15.
5. Fava M, Hwang I, Rush AJ, Sampson N, Walters EE, Kessler RC. The importance of irritability as a symptom of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication. *Mol Psychiatry* 2009; 15: 856-867.
6. Lewinsohn PM, Clarke GN, Seeley JR, Rohde P. Major depression in community adolescents: age at onset, episode duration and time to recurrence. *Acad Child Adolesc Psychiatry* 1994; 33: 809-18.
7. Birmaher B, Arbelaez C, Brent D. Course and outcome of child and adolescent major depressive disorder. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 2002; 11: 619-37.
8. Gould MS, Velting D, Kleinman M, Lucas C, Thomas JG, Chung M. Teenagers' attitudes about coping strategies and help-seeking behavior for suicidality. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2004; 43: 1124-33.
9. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4th edn, DSM-IV). Washington DC: Author 1994.
10. Emslie GJ, Heiligenstein JH, Hoog SL, Wagner KD, Findling RL, McCracken JT, Nilsson ME, Jacobson JG. Fluoxetine treatment for prevention of relapse of depression in children and adolescents: a double-blind, placebo-controlled study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2004; 43: 1397-405.
11. Kennard BD, Emslie GJ, Mayes TL, Hughes JL. Relapse and recurrence in pediatric depression. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 2006; 15: 1057-79.
12. Kennard B, Silva SG, Tonev S, Rohde P, Hughes JL, Vitiello B, Kratochvil CJ, Curry JF, Emslie GJ, Reinecke M, March J. Remission and recovery in the Treatment for Adolescents with Depression Study (TADS): acute and long-term outcomes. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2009; 48: 186-195.
13. Emslie GJ. Improving outcome in pediatric depression. *Am J Psychiatry* 2008; 165: 1-3.
14. Vitiello B, Emslie G, Clarke G, Wagner KD, Asarnow JR, Keller MB et al. Long-term outcome of adolescent depression initially resistant to selective serotonin reuptake inhibitor treatment: a follow-up study of the TORDIA sample. *J Clin Psychiatry* 2011; 72: 388-396.
15. Birmaher B, Ryan ND, Williamson DE, Brent DA, Kaufman J, Dahl R, Perel J, Nelson B. Childhood and adolescent depression: a review of the past 10 years: part I. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1996; 35: 1427-1439.
16. Fombonne E, Wostear G, Cooper V, Rutter M. The Maudsley long term follow up of child and adolescent depression. Psychiatric outcomes in adulthood. *Br J Psychiatry* 2001; 179: 210-217.
17. Wilson S, Hicks BM, Foster KT, McGue M, Iacono WG. Age of onset and course of major depressive disorder: associations with psychosocial functioning outcomes in adulthood. *Psychol Med* 2014; 44: 1-10.

18. Ministerio de Sanidad y Política Social. Guía de Práctica Clínica sobre la Depresión Mayor en la Infancia y la Adolescencia Guías de Práctica Clínica (GPC) en el Sistema Nacional de Salud (SNS) 2009.
19. National Institute for Health and Clinical Excellence. Depression in Children and Young People. Clinical Guideline 2005. Available at: <http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/10970/29856/29856.pdf>
20. Byford S, Barrett B, Roberts C, Wilkinson P, Dubicka B, Kelvin RG, White L, Ford C, Breen S, Goodyer I. Cost-effectiveness of selective serotonin reuptake inhibitors and routine specialist care with and without cognitive behavioural therapy in adolescents with major depression. *Br J Psychiatry*. 2007; 191: 521-527.
21. Hetrick SE, McKenzie JE, Merry SN. The use of SSRIs in children and adolescents. *Curr Opin Psychiatry*. 2010; 23: 53-57.
22. Qin B, Zhang Y, Zhou X, Cheng P, Liu Y, Chen J, Fu Y, Luo Q, Xie P. Selective serotonin reuptake inhibitors versus tricyclic antidepressants in young patients: a meta-analysis of efficacy and acceptability. *Clin Ther* 2014; 36: 1087-1095.
23. Kronenberg S, Frisch A, Rotberg B, Carmel M, Apter A, Weizman A. Pharmacogenetics of selective serotonin reuptake inhibitors in paediatric depression and anxiety. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 1725–1736
24. Hetrick SE, McKenzie JE, Cox GR, Simmons MB, Merry SN. Newer generation antidepressants for depressive disorders in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 14; 11: CD004851.
25. Ma D, Zhang Z, Zhang X, Li L. Comparative efficacy, acceptability, and safety of medicinal, cognitive-behavioral therapy and placebo treatments for acute major depressive disorder in children and adolescents: a multiple-treatments meta-analysis. *Curr Med Res Opin* 2014; 30: 971-995.
26. Thase ME. Preventing relapse and recurrence of depression: a brief review of therapeutic options. *CNS Spectr* 2006; Suppl 15: 12-21.
27. Emslie GJ, Kennard BD, Mayes TL, Nightingale-Teresi J, Carmody T, Hughes CW, Rush AJ, Tao R, Rintelmann W. Fluoxetine versus placebo in preventing relapse of major depression in children and adolescents. *Am J Psychiatry* 2008; 165: 459-467.
28. Heyman I, Fombonne E, Simmons H, Ford T, Meltzer H, Goodman R. Prevalence of obsessive—compulsive disorder in the British nationwide survey of child mental health. *Br J Psychiatry* 2001; 179: 324–329.
29. Jacob ML, Storch EA. Pediatric obsessive-compulsive disorder: a review for nursing professionals. *J Child Adolesc Psychiatr Nurs*. 2013; 26: 138-148.
30. Krebs G, Heyman I. Obsessive-compulsive disorder in children and adolescent. *Arc Dis Child* 2014; 0:1-5.
31. Jans T, Wewetzer C, Muller B, Neudörfel A, Bücherl U, Warnke A, Herpertz-Dahlmann B, Remschmidt H. Long-term outcome and prognosis of obsessive-compulsive disorder with onset in childhood or adolescence. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2001; 10: 37–46.
32. Geller DA. Obsessive-compulsive and spectrum disorders in children and adolescents. *Psychiatr Clin North Am* 2006; 29: 353-370.
33. Fullana MA, Mataix-Cols D, Caspi A, Harrington H, Grisham JR, Moffitt TE, Poulton R. Obsessions and compulsions in the community: prevalence, interference, help-seeking, developmental stability, and co-occurring psychiatric conditions. *Am J Psychiatry* 2009; 166: 329-336.
34. Micali N, Heyman I, Perez M, Hilton K, Nakatani E, Turner C, Mataix-Cols D. Long-term outcomes of obsessive—compulsive disorder: follow-up of 142 children and adolescents. *Br J Psychiatry* 2010; 197: 128-134.

35. Stewart SE, Geller DA, Jenike M, Pauls D, Shaw D, Mullin B, Faraone SV. Long-term outcome of pediatric obsessive-compulsive disorder: a meta-analysis and qualitative review of the literature. *Acta Psychiatr Scand* 2004; 110: 4-13.
36. Nice Clinical Guideline 31. Obsessive Compulsive Disorder. National Institute for Health and Clinical Excellence (NHS) 2005. Available at: <http://www.nice.org.uk/cg31>.
37. Liebowitz MR, Tumer SM, Placentini J, Biedel D, Clarvitt SR, Davles SO, Graae F, Jaffer M, Lin SH, Sallee FR, Schmidt AB, Simpson HB. Fluoxetine in children and adolescents with OCD: a placebo-controlled trial. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2002; 41: 1431-1438.
38. Geller DA, Biederman J, Stewart SE, Mullin B, Martin A, Spencer T, Faraone SV. Which SSRI? A meta-analysis of pharmacotherapy trials in pediatric obsessive-compulsive disorder. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 1919-1128.
39. Wagner KD, Cook EH, Chung H, Messig M. Remission status after long-term sertraline treatment of pediatric obsessive-compulsive disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 2003; 13 Suppl 1: S53-60.
40. Costello EJ, Egger HL, Angold A. The development epidemiology of anxiety disorders: phenomenology, prevalence and comorbidity. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 2005; 14: 631-648.
41. Masi G, Millepiede S, Mucci M, Poli P, Bertini N, Milantoni L. Generalized anxiety disorder in referred children and adolescents. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2004; 43: 752-760.
42. Masi G, Mucci M, Favilla L, Romano R, Poli P. Symptomatology and comorbidity of generalized anxiety disorder in children and adolescents. *Comp Psychiatry* 1999; 40: 210-215.
43. Moffitt TE, Caspi A, Harrington H, Milne BJ, Melchior M, Goldberg D, Poulton R. Generalized anxiety disorder and depression: childhood risk factors in a birth cohort followed to age 32. *Psychol Med* 2007; 37: 441-452.
44. Sartor CE, Lynskey MT, Heath AC, Jacob T, True W.. The role of childhood risk factors in initiation of alcohol use and progression to alcohol dependence. *Addiction* 2007; 102: 216-225.
45. Benjamin CL, Harrison JP, Settapani CA, Brodman DM, Kendall PC. Anxiety and related outcomes in young adults 7 to 19 years after receiving treatment for child anxiety. *J Consult Clin Psychol* 2013; 81: 865-876.
46. King NJ, Heyne D, Ollenidick TH. Cognitive-behavioural treatments for anxiety and phobic disorders in children and adolescents: a review. *Behav Disord* 2005; 30: 241-257.
47. Connolly SD, Bernstein GA; Work Group on Quality Issues. Practice Parameter for the Assessment and Treatment of Children and Adolescents with Anxiety Disorders. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2007; 46: 267-283.
48. Birmaher B, Axelson DA, Monk K, Kalas C, Clark DB, Ehmann M, Bridge J, Heo J, Brent DA. Fluoxetine for the treatment of childhood anxiety disorders. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2003; 42: 415-423.
49. March J, Silva S, Petrycki S, Curry J, Wells K, Fairbank J, Burns B, Domino M, McNulty S, Vitiello B, Severe J; Treatment for Adolescents With Depression Study (TADS) Team. Fluoxetine, cognitive-behavioral therapy, and their combination for adolescents with depression: Treatment for Adolescents With Depression Study (TADS) randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 292(7): 807-820

50. Sakolsky DJ, Perel JM, Emslie GJ, Clarke GN, Wagner KD, Vitiello B, Keller MB, Birmaher B, Asarnow JR, Ryan ND, McCracken JT, Strober MJ, Iyengar S, Porta G, Brent DA. Antidepressant exposure as a predictor of clinical outcomes in the Treatment of Resistant Depression in Adolescents (TORDIA) study. *J Clin Psychopharmacol* 2011; 3: 92-97.
51. Storch EA, Larson MJ, Shapira NA, Ward HE, Murphy TK, Geffken GR, Valerio H, Goodman WK. Clinical predictors of early fluoxetine treatment response in obsessive-compulsive disorder. *Depress Anxiety* 2006; 23: 429-433.
52. Kato M, Serretti A. Review and meta-analysis of antidepressant pharmacogenetic findings in major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 2010; 15: 473-500
53. Singh AB, Bousman CA, Ng C, Berk M. Antidepressants pharmacogenetics. *Curr Opin Psychiatry* 2014; 27: 43-51.
54. Serretti A., Artoli P. The pharmacogenomics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacogenomics J* 2004; 4: 233-244.
55. Malhotra AK, Murphy GM, Kennedy JL. Pharmacogenetics of psychotropic drug response. *Am J Psychiatry* 2004; 161: 780-796.
56. Drago A, De Ronchi D, Serretti A. Pharmacogenetics of antidepressant response: an update. *Hum. Genomics* 2009; 3: 257-274.
57. Crisafulli C, Fabbri C, Porcelli S, Drago A, Spina E, De Ronchi D, Serretti A. Pharmacogenetics of antidepressants. *Front Pharmacol* 2011; 16: 2: 1-21.
58. Scordo MG, Spina E, Dahl M-L, Gatti G, Perucca E. Influence of CYP2C9, 2C19 and D6 Genetic polymorphisms on the steady-state plasma concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97: 296-30.
59. Ingelman-Sundberg, M, Sim, SC, Gomez, A, and Rodriguez-Antona, C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeconomic and clinical aspects. *Pharmacol Ther* 2007; 116, 496-526.
60. Uhr M, Grauer MT, Yassouridis A, Ebinger M. Blood-brain barrier penetration and pharmacokinetics of amitriptyline and its metabolites in p-glycoprotein (abcb1ab) knock-out mice and controls. *J Psychiatr Res* 2007; 41: 179-188.
61. Niitsu T, Fabbri C, Bentini F, Serretti A. Pharmacogenetics in major depression: a comprehensive meta-analysis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2013; 1: 183-194.
62. Ring BJ, Eckstein JA, Gillespie JS, Binkley SN, Vandenbranden M, Wrighton SA. Identification of the human cytochromes P450 responsible for in vitro formation of R- and S-Norfluoxetine. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297: 1044-1050.
63. Gough AC, Smith CA, Howell SM, Wolf CR, Bryant SP, Spurr NK. Localization of the CYP2D gene locus to human chromosome 22q13.1 by polymerase chain reaction, in situ hybridization, and linkage analysis. *Genomics* 1993; 15: 430-432
64. Kimura S, Umeno M, Skoda RC, Meyer UA, Gonzalez FJ. The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic. CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet* 1989; 45: 889-904
65. Zhou SF. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part I. *Clin Pharmacokinet* 2009; 48: 689-723
66. Wang D, Poi MJ, Sun X, Gaedigk A, Leeder JS, Sadee W. Common CYP2D6 polymorphisms affecting alternative splicing and transcription: long-range haplotypes with two regulatory variants modulate CYP2D6 activity. *Hum Mol Genet* 2014; 23: 268-278.
67. Scordo MG, Caputi AP, D'Arrigo C, Fava G, Spina E. Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population. *Pharmacol Res* 2004; 50: 195-200.

68. Charlier C, Broly F, Lhermitte M, Pinto E, Anseau M, Plomteaux G. Polymorphisms in the CYP2D6 gene: association with plasma concentrations of fluoxetine and paroxetine. *Ther Drug Monit* 2003; 25:738-742.
69. Osikowska-Evers B, Dayer P, Meyer UA, et al. Evidence for altered catalytic properties of the cytochrome P-450 involved in sparteine oxidation in poor metabolizers. *Clin Pharmacol Ther* 1987; 41: 320-325.
70. Rideg O, Háber A, Botz L, Szücs F, Várnai R, Miseta A, Kovács GL. Pilot study for the characterization of pharmacogenetically relevant CYP2D6, CYP2C19 and ABCB1 gene polymorphisms in the Hungarian population. *Cell Biochem Funct* 2011; 29: 562-568.
71. Blázquez A, Mas S, Plana MT, Lafuente A, Lázaro L. Fluoxetine pharmacogenetics in child and adult populations. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2012; 21: 599-610.
72. Yokoi T. Essentials for starting a pediatric clinical study (1): pharmacokinetics in children. *J Toxicol Sci* 2009; 34 Suppl 2: S307-12.
73. Zhou SF, Zhou ZW, Huang M. Polymorphisms of human cytochrome P450 2C9 and the functional relevance. *Toxicology* 2010; 278: 165-188.
74. Goldstein JA, de Morais SM. Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 285-299.
75. Dorado P., Berecz R., Norberto MJ., Yasar Ü., Dahl ML., Llerena A. CYP2C9 genotypes and diclofenac metabolism in Spanish healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003; 59: 221-225.
76. Samer CF, Lorenzini KI, Rollason V, Daali Y, Desmeules JA. Applications of CYP450 testing in the clinical setting. *Mol Diagn Ther* 2013; 17: 165-184.
77. Anderson GD. Developmental pharmacokinetics. *Semin Pediatr Neurol* 2010; 17: 208-213.
78. Uhr M, Grauer MT, Holsboer F. Differential enhancement of antidepressant penetration into the brain in mice with *abcb1ab* (*mdr1ab*) P-glycoprotein gene disruption. *Biol Psychiatry* 2003; 54: 840-846.
79. Uhr M, Grauer MT, Yassouridis A, Ebinger M. Blood-brain barrier penetration and pharmacokinetics of amitriptyline and its metabolites in p-glycoprotein (*abcb1ab*) knock-out mice and controls. *J Psychiatr Res* 2007; 41: 179-188.
80. Bell DR, Trent JM, Willard HF, Riordan JR, Ling V. Chromosomal location of human glycoprotein gene sequences. *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 25: 141-148.
81. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, John A et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 3473-3478.
82. Eichelbaum M, Fromm MF, Schwab M. Clinical aspects of the MDR1 (ABCB1) gene polymorphism. *Ther Drug Monit* 2004; 26: 180-185.
83. Karlsson L, Green H, Zackrisson AL, Bengtsson F, Jakobsen Falk I, Carlsson B, Ahlner J, Kugelberg FC. ABCB1 gene polymorphisms are associated with fatal intoxications involving venlafaxine but not citalopram. *Int J Legal Med* 2013; 127: 579-586.
84. Uhr M, Tontsch A, Namendorf C, Ripke S, Lucae S, Ising M, Dose T, Ebinger M, Rosenhagen M, Kohli M, Kloiber S, Salyakina D, Bettecken T, Specht M, Putz B, Binder EB, Müller-Myhsok B, Holsboer F. Polymorphisms in the drug transporter gene ABCB1 predict antidepressant treatment response in depression. *Neuron* 2008; 57: 203-209.
85. Gram, LF. Fluoxetine. *N Engl J Med* 1994; 331: 1354-1361.
86. DeVane CL. Metabolism and pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Cell Mol Neurobiol* 1999; 19: 443-466.
87. Hiemke C, Härtter S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacol Ther* 2000; 85: 11-28.

88. Baumann P, RoCHAT B. Comparative pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors: a look behind the mirror. *Int Clin Psychopharmacol* 1995; 10 (suppl. 1): 15-21.
89. Catterson ML, Preskorn, SH. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors: clinical relevance. *Pharmacol Toxicol* 1996; 78: 203-208.
90. Pichini S, Papaseit E, Joya X, Vall O, Farré M, García-Algar O, de la Torre R. Pharmacokinetics and therapeutic drugs monitoring of psychotropic drugs in pediatrics. *Ther Drug Monit* 2009; 31: 283–318
91. Benfield P, Heel RC, Lewis SP. Fluoxetine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in depressive illness. *Drugs* 1986; 32: 481–508
92. Gupta RK, Parker G, Norman TR, Judd FK, Burrows GD. Fluoxetine-delayed half-life and an adverse event. *Med J Aust* 1993; 158: 722-733.
93. Mandrioli R, Forti GC, Raggi MA. Fluoxetine metabolism and pharmacological interactions: the role of cytochrome p450. *Curr Drug Metab* 2006; 7: 127-33.
94. Eap CB, Bondolfi G, Zullino D, Savary-Cosendai L, Powell-Golay K, Kosel M, Baumann P. Concentrations of the enantiomers of fluoxetine and norfluoxetine after multiple doses of fluoxetine in cytochrome P4502D6 poor and extensive metabolizers. *J Clin Psychopharmacol* 2001; 21: 330-334.
95. Llerena A, Cobaleda J, Martínez C, Benítez J. Interethnic differences in drug metabolism: influence of sex related and environmental factors on debrisoquine hydroxylation phenotype. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 1996; 21: 129-138.
96. Liu Z-H., Shu Y., Huang S-L., Wang L-S., He N., Zhou H-H. Effects of CYP2C19 genotype and CYP2C9 on fluoxetine N-demethylation in human liver microsomes. *Acta Pharmacol Sin.* 2001; 22: 85-90.
97. Wang Z, Wang S, Huang M, Hu H, Yu L, Zeng S. Characterizing the effect of cytochrome P450 (CYP) 2C8, CYP2C9 and CYP2D6 genetic polymorphisms on stereoselective N-demethylation of fluoxetine. *Chirality* 2014; 26: 166-173.
98. Llerena A, Dorado P, Berecz R, González AP, Peñas-Lledó EM. Effect of CYP2D6 and CYP2C9 genotypes on fluoxetine and norfluoxetine plasma concentrations during steady-state conditions. *Eur J Clin Pharmacol* 2004; 59:869-873.
99. Menu P, Gressier F, Verstuyft C, Hardy P, Becquemont L, Corruble E. Antidepressants and ABCB1 gene C3435T functional polymorphism: a naturalistic study. *Neuropsychobiology* 2010; 62: 193-197.
100. Dong C, Wong ML, Licinio J. Sequence variations of ABCB1, SLC6A2, SLC6A3, SLC6A4, CREB1, CRHR1 and NTRK2: association with major depression and antidepressant response in Mexican-Americans. *Mol Psychiatry* 2009; 14: 1105-1118.
101. Singh AB, Bousman CA, Ng CH, Byron K, Berk M. ABCB1 polymorphism predicts escitalopram dose needed for remission in major depression. *Transl Psychiatry* 2012; doi: 10.1038/tp.2012.115.
102. Amsterdam JD, Fawcett J, Quitkin FM, Reimherr FW, Rosenbaum JF, Michelson D, et al. Fluoxetine and norfluoxetine plasma concentrations in major depression: a multicenter study. *Am J Psychiatry.* 1997; 154: 963-969.
103. Beasley CM Jr, Bosomworth JC, Wernicke JF. Fluoxetine: relationships among dose, response, adverse events, and plasma concentrations in the treatment of depression. *Psychopharmacol Bull* 1990; 26: 18-24.
104. Norman TR, Gupta RK, Burrows GD, Parker G, Judd FK. Relationship between antidepressant response and plasma concentration of fluoxetine and norfluoxetine. *Int Clin Pharmacol* 1993; 8: 25-29.

105. Charlier C, Pinto E, Anseau M, Plomteux G. Relationship between Clinical Effects, Serum Drug Concentration, and Concurrent Drug Interactions in Depressed Patients Treated with Citalopram, Fluoxetine, Clomipramine, Paroxetine or Venlafaxine. *Hum Psychopharmacol Clin Exp* 2000; 15: 453-459.
106. Reis M, Aamo T, Spigset O, et al. Serum concentrations of antidepressant drugs in a naturalistic setting: compilation based on a large therapeutic drug monitoring database. *Ther Drug Monit* 2009; 31: 98-102.
107. Wilens TE, Cohen L, Biederman J, Abrams A, Neft D, Faird N, Sinha V. Fluoxetine Pharmacokinetics in pediatric patients. *J Clin Psychopharmacol* 2002; 22: 568-575.
108. Findling RL, McNamara NK, Stansbrey RJ, Feeny NC, Young CM, Peric FV, Youngstrom EA. The relevance of pharmacokinetic studies in designing efficacy trials in juvenile major depression. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. 2006; 16: 131-145.
109. Sakolsky DJ, Perel JM, Emslie GJ, Clarke GN, Wagner KD, Vitiello B, Keller MB, Birmaher B, Asarnow JR, Ryan ND, McCracken JT, Strober MJ, Iyengar S, Porta G, Brent DA. Antidepressant exposure as a predictor of clinical outcomes in the Treatment of Resistant Depression in Adolescents (TORDIA) study. *J Clin Psychopharmacol* 2011; 3: 92-97.
110. Koelch M, Pfalzer AK, Kliegl K, Rothenhöfer S, Ludolph AG, Fegert JM, Burger R, Mehler-Wex C, Stingl J, Taurines R, Egberts K, Gerlach M. Therapeutic drug monitoring of children and adolescents treated with fluoxetine. *Pharmacopsychiatry*. 2012; 45: 72-76.
111. Ulloa RE, Ortiz S, Higuera F, Nogales I, Fresán A, Apiquian R, Cortés J, Arechavaleta B, Foullieux C, Martínez P, Hernández L, Domínguez E, de la Peña F. Interrater reliability of the Spanish version of Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children--Present and Lifetime version (K-SADS-PL)]. *Actas Esp Psiquiatr* 2006; 34: 36-40.
112. Kaufman J, Birmaher B, Brent D, Rao U, Flynn C, Moreci P, Williamson D, Ryan N. Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children--Present and Lifetime Version (K-SADS-PL): initial reliability and validity data. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997; 36: 980-988.
113. Frank E, Prien RF, Jarrett RB, Keller MB, Kupfer DJ, Lavori PW, Rush AJ, Weissman MM. Conceptualization and rationale for consensus definitions of terms in major depressive disorder. Remission, recovery, relapse, and recurrence. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 48: 851-855.
114. Kovacs, M. *Children's Depression Inventory manual*. New York: Multi-Health Systems; 1992.
115. Foa EB, Coles M, Huppert JD, Pasupuleti RV, Franklin ME, March J. Development and validation of a child version of the obsessive compulsive inventory. *Behav Ther* 2010; 41:121-132.
116. Scahill L, Riddle MA, McSwiggin-Hardin M, Ort SI, King RA, Goodman WK, Cicchetti D, Leckman JF. Children's Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale: reliability and validity. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997; 36: 844-852.
117. Birmaher B, Khetarpal S, Brent D, Cully M, Balach L, Kaufman J, Neer SM. The Screen for Child Anxiety Related Emotional Disorders (SCARED): scale construction and psychometric characteristics. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1997; 36: 545-553.
118. Guy, W. *ECDEU Assessment Manual for Psychopharmacology, Revised*. Bethesda, MD: United States Department of Health, Education, and Welfare; 1976.
119. Luborsky L. Clinician's judgments of mental health: A proposed scale. *Arch Gen Psychiatry* 1962; 7: 407-417.

120. Shaffer D, Gould MS, Brasic J, Ambrosini P, Fisher P, Bird H, Aluwahlia S. A children's global assessment scale (CGAS). *Arch Gen Psychiatry* 1983; 40: 1228-1231.
121. Lingjaerde O, Ahlfors UG, Bech P, Dencker SJ, Elgen K. The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 1987; 334: 1-100.
122. Brent D, Emslie G, Clarke G, Wagner KD, Asarnow JR, Keller M, Vitiello B, Ritz L, Iyengar S, Abebe K, Birmaher B, Ryan N, Kennard B, Hughes C, DeBar L, McCracken J, Strober M, Suddath R, Spirito A, Leonard H, Melhem N, Porta G, Onorato M, Zelazny J. Switching to another SSRI or to venlafaxine with or without cognitive behavioral therapy for adolescents with SSRI-resistant depression: the TORDIA randomized controlled trial. *JAMA* 2008; 299: 901-913.
123. Storch EA, Lewin AB, De Nadai AS, Murphy TK. Defining treatment response and remission in obsessive-compulsive disorder: a signal detection analysis of the Children's Yale-Brown Obsessive Compulsive Scale. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2010; 49: 708-717.
124. Baumgartner JL, Emslie GJ, Crismon ML. Citalopram in children and adolescents with depression or anxiety. *Ann Pharmacother* 2002; 36: 1692-1697.
125. LLerena A, Dorado P, Berecz R, González A, Jesús Norberto M, de la Rubia A, Cáceres M. Determination of fluoxetine and norfluoxetine in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection in psychiatric patients. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2003; 783: 25-31.
126. Nash JF, Boop RJ, Carmichael RH, Farid KZ, Lemberger L. Determination of fluoxetine and norfluoxetine in plasma by gas chromatography with electron-capture detection. *Clin Chem* 1982; 28:2100–2102.
127. Harris RZ, Benet LZ, Schwartz JB. Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Drugs* 1995; 50: 222-239.
128. Estrada Camarena-E, López-Ruvalcava C, Vega-Rivera N, Récamier-Carballo S, Fernández- Guasti A. Antidepressant effects of estrogens: a basic approximation. *Behav Pharmacol* 2010; 21: 451-64.
129. Hodes GE, Hill-Smith TE, Suckow RF, Cooper TB, Lucki I. Sex-specific effects of chronic fluoxetine treatment on neuroplasticity and pharmacokinetics in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 332:266-73.
130. Gray VC, Hughes RN. Drug-, dose- and sex-dependent effects of chronic fluoxetine, reboxetine and venlafaxine on open-field behavior and spatial memory in rats. *Behav Brain Res* 2015; 28: 43-54.
131. Ferguson JM, Hill H. Pharmacokinetics of fluoxetine in elderly men and women. *Gerontology* 2006; 52: 45-50.
132. Kashuba AD, Nafziger AN. Physiological changes during menstrual cycle and their effects on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Clin Pharmacokinet* 1998; 34: 203-218.
133. Meibohm B, Beierle I, Derendorf H. How important are gender differences in pharmacokinetics? *Clin Pharmacokinet* 2002; 41: 329-342.
134. Tanaka E. Gender-related differences in pharmacokinetics and their clinical significance. *J Clin Pharm Ther* 1999; 24: 339-346.
135. Thomsen PH. Obsessive-compulsive disorder: pharmacological treatment. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2000; 9 Suppl 1: 176-184.
136. Pérez Sola V, Pérez Blanco J, Álvarez E, Queraltó JM. Plasmatic concentrations of fluoxetine, pharmacokinetics, therapeutic response and side effects. *Actas Luso Esp Neurol Psiquiatr Cienc Afines* 1993; 21: 143-147.

137. Lewis CC, Simons AD, Nguyen JL, Reid MW, Silva SG, March JS. Impact of childhood trauma on treatment outcome in the TADS study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2010; 49: 132-140.
138. Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, McClay J, Mill J, Martin J, Braithwaite A, Poulton R. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 2003; 301: 386-389.
139. Restifo K, Bögels S. Family processes in the development of youth depression: translating the evidence to treatment. *Clin Psychol Rev*. 2009; 29: 294-316.
140. Hawker DS, Boulton MJ. Twenty years' research on peer victimization and psychosocialmaladjustment: a meta-analytic review of cross-sectional studies. *J Child Psychol Psychiatry*.2000; 41:441-455.
141. Birmaher B, Arbelaez C, Brent D. Course and outcome of child and adolescent major depressive disorder. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 2002; 11: 619-37.
142. Grasmäder K, Verwohlt PL, Rietschel M, Dragicevic A, Müller M, Hiemke C, Freymann N, Zobel A, Maier W, Rao ML. Impact of polymorphisms of cytochrome-P450 isoenzymes 2C9, 2C19 and 2D6 on plasma concentrations and clinical effects of antidepressants in a naturalistic clinical setting. *Eur J Clin Pharmacol* 2004; 60: 329-336.
143. Serretti A, Calati R, Massat I, Linotte S, Kasper S, Lecubrier Y, Sens-Espel R, Bollen J, Zohar J, Berlo J, Lienard P, De Ronchi D, Mendlewicz J, Souery D. Cytochrome P450, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes are not associated with the response and remission in a sample of depressive patients. *Int Clin Psychopharmacol* 2009; 24: 250-256.
144. Uhr M, Grauer MT. Abcb1ab P-glycoprotein is involved in the uptake of citalopram and trimipramine into the brain of mice. *J Psychiatr Res* 2003; 37: 179-185.
145. Rasmussen BB, Brøsen K. Is therapeutic drug monitoring a case for optimizing clinical outcome and avoiding interactions of the selective serotonin reuptake inhibitors? *Ther Drug Monit* 2000; 22: 143-154.
146. Gex-Fabry M, Eap CB, Oneda B, Gervasoni N, Aubry JM, Bondolfi G, Bertschy G. CYP2D6 and ABCB1 genetic variability: influence on paroxetine plasma level and therapeutic response. *Ther Drug Monit* 2008; 30: 474-482.
147. Sarginson JE, Lazzeroni LC, Ryan HS, Ershoff BD, Schatzberg AF, Murphy Jr. GM. ABCB1 (MDR1) polymorphisms and antidepressant response in geriatric depression. *Pharmacogenet Genomics* 2010; 20: 467-475.
148. Nikisch G, Eap CB, Baumann P. Citalopram enantiomers in plasma and cerebrospinal fluid of ABCB1 genotyped depressive patients and clinical response: a pilot study. *Pharmacol Res* 2008; 58: 344-347.
149. Uhr M, Tontsch A, Namendorf C, Ripke S, Lucae S, Ising M, Dose T, Ebinger M, Rosenhagen M, Kohli M, Kloiber S, Salyakina D, Bettecken T, Specht M, Pütz B, Binder EB, Müller-Myhsok B, Holsboer F. Polymorphisms in the drug transporter gene ABCB1 predict antidepressant treatment response in depression. *Neuron* 2008; 57: 203-209.
150. Kato M, Fukuda T, Serretti A, Wakeno M, Okugawa G, Ikenaga Y, Hosoi Y, Takekita Y, Mandelli L, Azuma J, Kinoshita T. ABCB1(MDR1) gene polymorphisms are associated with the clinical response to paroxetine in patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 398-404.
151. Uhr M, Steckler T, Yassouridis A, Holsboer F. Penetration of amitriptyline, but not of fluoxetine, into brain is enhanced in mice with blood-brain barrier deficiency due to mdr1a P-glycoprotein gene disruption. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22: 380-387.

152. Noordam R, Aarts N, Hofman A, van Schaik RH, Stricker BH, Visser LE. Association between genetic variation in the ABCB1 gene and switching, discontinuation, and dosage of antidepressant therapy: results from the Rotterdam Study. *J Clin Psychopharmacol* 2013; 33: 546-550.
153. Fujii T, Ota M, Hori H, Sasayama D, Hattori K, Teraishi T, Yamamoto N, Hashikura M, Tatsumi M, Higuchi T, Kunugi H. Association between the functional polymorphism (C3435T) of the gene encoding P-glycoprotein (ABCB1) and major depressive disorder in the Japanese population. *J Psychiatr Res* 2012; 46: 555-559.
154. Kunugi H, Hori H, Adachi N, Numakawa T. Interface between hypothalamic-pituitary-adrenal axis and brain-derived neurotrophic factor in depression. *Psychiatry Clin Neurosci* 2010; 64: 447-459.
155. Dunn V, Goodyer IM. Longitudinal investigation into childhood and adolescence-onset depression: psychiatric outcome in early adulthood. *Br J Psychiatry* 2006; 188: 216-22.
156. March J, Silva S, Vitiello B. The Treatment for Adolescents with Depression Study (TADS): methods and message at 12 weeks. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2006; 45:1393–1403.
157. Lewinsohn PM, Allen NB, Seeley JR, Gotlib IH. First onset versus recurrence of depression: differential processes of psychosocial risk. *J Abnorm Psychol* 1999; 108: 483-489.
158. Fava GA, Ruini C, Belaise C. The concept of recovery in major depression. *Psychol Med*. 2007; 37: 307-317.
159. Conradi HJ, Ormel J, de Jonge P. Presence of individual (residual) symptoms during depressive episodes and periods of remission: a 3-year prospective study. *Psychol Med*. 2010; 8:1-10.
160. Kennard BD, Silva SG, Tonev S, Rohde P, Hughes JL, Vitiello B, Kratochvil CJ, Curry JF, Emslie GJ, Reinecke M, March J. Remission and recovery in the treatment for adolescents with depression study (TADS): acute and long-term outcomes. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2009; 48: 186-195.
161. Kovacs M, Gatsonis C, Paulauskas SL., Richards C. Depressive disorders in childhood: IV. A longitudinal study of comorbidity with and risk for anxiety disorders. *Arch Gen Psychiatry* 1989; 46: 776-182.
162. Emslie GJ, Heiligenstein JH, Wagner KD, Hoog SL, Ernest DE, Brown E, Nilsson M, Jacobson JG. Fluoxetine for acute treatment of depression in children and adolescents: a placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2002; 24: 377-383.
163. Harrington R, Fudge H, Rutter M, Pickles A, Hill, J. Adult outcomes of childhood and adolescent depression: I. Psychiatric status. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 47: 465-473.
164. Kovacs M, Goldston D, Gatsonis C. Suicidal behaviors and childhood-onset depressive disorders: a longitudinal investigation. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1993; 32: 8-20.
165. Lewinsohn PM, Clarke GN, Seeley JR, Rohde P. Major depression in community adolescents: age at onset, episode duration and time to recurrence. *Acad Child Adolesc Psychiatry* 1994; 33:809-818.
166. Gledhill J, Garralda ME. The short-term outcome of depressive disorder in adolescents attending primary care: a cohort study. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 2011; 46: 993-1002.
167. Geller B, Zimmerman B, Williams M, Bolhofner K, Craney JL. Adult psychosocial outcome of prepubertal major depressive disorder. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2001; 40: 673-677.

168. Essau CA. Course and outcome of major depressive disorder in non-referred adolescents. *J Affect Disord* 2007; 99: 191-201.
169. Lau JY, Eley TC. Disentangling gene-environment correlations and interactions on adolescent depressive symptoms. *J Child Psychol Psychiatry* 2008; 49: 142-150.
170. Porcelli S, Drago A, Fabbri C, Gibiino S, Calati R, Serretti A. Pharmacogenetics of antidepressant response. *J Psychiatry Neurosci*. 2011; 36: 87-113.
171. Fu Q, Heath AC, Bucholz KK, Nelson EC, Glowinski AL, Goldberg J, Lyons MJ, Tsuang MT, Jacob T, True MR, Essen SA. A twin study of genetic and environmental influences on suicidality in men. *Psychol Med* 2002; 32: 11-24.
172. Zackrisson AL, Lindblom B, Ahlner J. High frequency of occurrence of CYP2D6 gene duplication/multiduplication indicating ultrarapid metabolism among suicide cases. *Clin Pharmacol Ther* 2010; 11: 9039-9005.
173. Peñas-Lledó EM, Blasco-Fontecilla H, Dorado P, Vaquero-Lorenzo C, Baca-García E, Llerena A. CYP2D6 and the severity of suicide attempts. *Pharmacogenomics*. 2012; 13: 179-84.
174. Höfer P, Schosser A, Calati R, Serretti A, Massat I, Kocabas NA, Konstantinidis A, Linotte S, Mendlewicz J, Souery D, Zohar J, Juven-Wetzler A, Montgomery S, Kasper S. The impact of cytochrome P450 CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 genes on suicide attempt and suicide risk- a European multicentre study on treatment-resistant major depressive disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2013; 263: 385-391.
175. Fujii T, Ota M, Hori H, Sasayama D, Hattori K, Teraishi T, et al. Association between the functional polymorphism (C3435T) of the gene encoding P-glycoprotein (ABCB1) and major depressive disorder in the Japanese population. *J Psychiatr Res* 2012; 46: 555-559.
176. Perroud N, Bondolfi G, Uher R, Gex-Fabry M, Aubry JM, Bertschy G, et al. Clinical and genetic correlates of suicidal ideation during antidepressant treatment in a depressed outpatient sample. *Pharmacogenomics* 2011; 12: 365-377.
177. Boiso Moreno S, Zackrisson AL, Jakobsen Falk I, Karlsson L, Carlsson B, Tillmar A, Kugelberg FC, Ahlner J, Hägg S, Gréen H. ABCB1 gene polymorphisms are associated with suicide in forensic autopsies. *Pharmacogenet Genomics* 2013; 23: 463-469.

9. ANEXOS

9.1. Inventario de depresión CDI

CHILD DEPRESSION INVENTORY (C.D.I)

Los chicos/as como tu tienen diferentes sentimientos e ideas. En este cuestionario recogemos estos sentimientos e ideas agrupados. De cada grupo, tienes que señalar una frase que sea la que mejor describa cómo te has sentido durante las últimas dos semanas. Una vez que hayas terminado con un grupo, pasa al siguiente. No hay respuestas correctas o incorrectas. Únicamente tienes que señalar la frase que describa mejor cómo te has encontrado últimamente. Pon una marca como ésta X en el cuadrado que hay junto a tu respuesta.

Hagamos un ejemplo. Pon una señal junto a la frase que MEJOR te describe:

Ejemplo:

- Leo libros muy a menudo
- Leo libros de vez en cuando
- Nunca leo libros

RECUERDA, SEÑALA LAS FRASES QUE DESCRIBAN TUS SENTIMIENTOS O TUS IDEAS EN LAS ÚLTIMAS DOS SEMANAS.

1. ESTOY TRISTE DE VEZ EN CUANDO
 ESTOY TRISTE MUCHAS VECES
 ESTOY TRISTE SIEMPRE
2. NADA ME SALDRÁ BIEN
 NO ESTOY SEGURO DE SI LAS COSAS ME SALDRÁN BIEN
 LAS COSAS ME SALDRÁN BIEN
3. HAGO LA MAYORÍA DE LAS COSAS BIEN
 HAGO MUCHAS COSAS MAL
 TODO LO HAGO MAL
4. ME DIVIERTEN MUCHAS COSAS
 ME DIVIERTEN ALGUNAS COSAS
 NO ME DIVIERTE NADA EN ABSOLUTO
5. SOY MALO SIEMPRE
 SOY MALO MUCHAS VECES
 SOY MALO A VECES
6. A VECES PIENSO QUE ME PUEDEN OCURRIR COSAS MALAS
 ME PREOCUPAN LAS COSAS MALAS QUE ME OCURRAN
 ESTOY SEGURO DE QUE ME OCURRIRAN COSAS TERRIBLES
7. ME OUDIO
 NO ME GUSTA COMO SOY
 ME GUSTA COMO SOY
8. TODAS LAS COSAS MALAS SON CULPA MIA
 MUCHAS COSAS MALAS SON CULPA MIA
 LAS COSAS MALAS NO SON GENERALMENTE CULPA MIA
9. NO PIENSO EN MATARME
 PIENSO EN MATARME PERO NO DEBERÍA HACERLO
 ME QUIERO MATAR
10. TENGO GANAS DE LLORAR TODOS LOS DÍAS
 TENGO GANAS DE LLORAR MUCHOS DÍAS
 TENGO GANAS DE LLORAR DE VEZ EN CUANDO
11. LAS COSAS ME PREOCUPAN SIEMPRE
 LAS COSAS ME PREOCUPAN MUCHAS VECES
 LAS COSAS ME PREOCUPAN DE VEZ EN CUANDO
12. ME GUSTA ESTAR CON LA GENTE
 MUY A MENUDO NO ME GUSTA ESTAR CON LA GENTE

- NO QUIERO EN ABSOLUTO ESTAR CON LA GENTE
- 13. NO PUEDO DECIDIRME
 ME CUESTA DECIDIRME
 ME DECIDO FÁCILMENTE
- 14. TENGO BUEN ASPECTO
 HAY ALGUNAS COSAS QUE NO ME GUSTAN DE MI ASPECTO
 SOY FEO
- 15. SIEMPRE TENGO QUE ESFORZARME PARA PONERME A HACER LOS DEBERES
 MUCHAS VECES TENGO QUE ESFORZARME PARA PONERME A HACER LOS DEBERES
 PONERME A HACER LOS DEBERES NO ES UN GRAN PROBLEMA
- 16. TENGO PROBLEMAS PARA DORMIR CADA NOCHE
 TENGO PROBLEMAS PARA DORMIR MUCHAS NOCHES
 DUERMO MUY BIEN
- 17. ESTOY CANSADO DE VEZ EN CUANDO
 ESTOY CANSADO MUCHOS DÍAS
 ESTOY CANSADO SIEMPRE
- 18. LA MAYORÍA DE LOS DÍAS NO TENGO GANAS DE COMER
 MUCHOS DÍAS NO TENGO GANAS DE COMER
 COMO MUY BIEN
- 19. NO ME PREOCUPA EL DOLOR NI LA ENFERMEDAD
 MUCHAS VECES ME PREOCUPA EL DOLOR Y LA ENFERMEDAD
 SIEMPRE ME PREOCUPA EL DOLOR Y LA ENFERMEDAD
- 20. NUNCA ME SIENTO SOLO
 ME SIENTO SOLO MUCHAS VECES
 ME SIENTO SOLO SIEMPRE
- 21. NUNCA ME DIVIERTO EN EL COLEGIO
 ME DIVIERTO EN EL COLEGIO SÓLO DE VEZ EN CUANDO
 ME DIVIERTO EN EL COLEGIO MUCHAS VECES
- 22. TENGO MUCHOS AMIGOS
 TENGO ALGUNOS AMIGOS PERO DESEO TENER MAS
 NO TENGO AMIGOS
- 23. MI TRABAJO EN EL COLEGIO ES BUENO
 MI TRABAJO EN EL COLEGIO NO ES TAN BUENO COMO ANTES
 LLEVO MUY MAL LAS ASIGNATURAS QUE SOLÍA LLEVAR BIEN
- 24. NUNCA PODRÉ SER TAN BUENO COMO OTROS NIÑOS
 PUEDO SER TAN BUENO COMO OTROS NIÑOS SI QUIERO
 SOY TAN BUENO COMO OTROS NIÑOS
- 25. NADIE ME QUIERE
 NO ESTOY SEGURO DE QUE ALGUIEN ME QUIERA
 ESTOY SEGURO DE QUE ALGUIEN ME QUIERE
- 26. GENERALMENTE HAGO LO QUE SE ME DICE
 MUCHAS VECES NO HAGO LO QUE SE ME DICE
 NUNCA HAGO LO QUE SE ME DICE
- 27. ME LLEVO BIEN CON LA GENTE
 ME PELEO MUCHAS VECES
 ME PELEO SIEMPRE

9.2. Inventario síntomas obsesivo-compulsivos OCI/CV

En esta página hay varias preguntas que queremos que contestes. Lee con atención cada frase y dinos **cuánto te han pasado estas cosas durante el último mes**. Si nunca te pasa, pon un círculo en la palabra "nunca". Si te pasa a veces, pon un círculo en la palabra "a veces". Si te pasa casi siempre pon un círculo en la palabra "siempre". Esto no es un examen, así que no hay respuestas buenas o malas.

| Ejemplo: | Nunca | A veces | Siempre |
|---|-------|---------|---------|
| Pienso mucho en perros | | | |
| 1. Pienso en cosas malas y no puedo parar | | | |
| 2. Siento que me tengo que lavar y limpiar una y otra vez | | | |
| 3. Acumulo tantas cosas que al final me estorban | | | |
| 4. Compruebo muchas cosas una y otra vez | | | |
| 5. Después de hacer ciertas cosas, no estoy seguro/a de si realmente las hice | | | |
| 6. Necesito contar mientras hago cosas | | | |
| 7. Acumulo cosas que realmente no necesito | | | |
| 8. Me molesta que mis cosas no estén en el orden correcto | | | |
| 9. Me retraso en mis deberes de la escuela porque repito las cosas una y otra vez | | | |
| 10. Me preocupa mucho de que las cosas estén limpias | | | |
| 11. Tengo malos pensamientos que me molestan | | | |
| 12. Tengo que decir algunos números una y otra vez | | | |
| 13. Me preocupo de si he terminado las cosas incluso después de hacerlas | | | |
| 14. Me siento mal porque me vienen a la cabeza malos pensamientos aunque no quiera | | | |
| 15. Compruebo puertas, ventanas y cajones una y otra vez | | | |
| 16. No tiro cosas porque temo que podría necesitarlas más adelante | | | |
| 17. Me molesta que los demás cambien la forma en que pongo las cosas | | | |
| 18. Si me viene a la cabeza un mal pensamiento, necesito decir ciertas cosas una y otra vez | | | |
| 19. Necesito que las cosas estén de una cierta manera | | | |
| 20. Incluso cuando hago algo con mucho cuidado no creo que lo haya hecho bien | | | |
| 21. Me lavo las manos más que otros niños/as | | | |

9.3. Versión infantil escala Yale-Brown

LISTA DE OBSESIONES DE LA ESCALA YALE-BROWN

Marque todos los que procedan, pero señale los síntomas principales con una "P".
(Los apartados marcados con "*" pueden ser o no ser síntomas de T.O.C.)

| <u>Actuales</u> | <u>Pasadas</u> | <u>OBSESIONES DE CONTAMINACION</u> |
|------------------------------------|----------------|---|
| _____ | _____ | Preocupación con suciedad, gérmenes, ciertas enfermedades (ej. SIDA) |
| _____ | _____ | Preocupación o asco a las deposiciones o las secreciones (ej. orina, heces, saliva) |
| _____ | _____ | Preocupación excesiva por la contaminación del medio ambiente (ej. asbestos, radiación, desechos tóxicos) |
| _____ | _____ | Preocupación excesiva por los productos de limpieza (ej. limpiadores, desinfectantes, disolventes) |
| _____ | _____ | Preocupación excesiva por animales, insectos |
| _____ | _____ | Excesivamente molesto con sustancias o residuos pegajosos |
| _____ | _____ | Preocupación por enfermarse a causa de contaminantes |
| _____ | _____ | Preocupación por que otros enfermen por fumigar con contaminantes (agresivo) |
| _____ | _____ | Ausencia de preocupación sobre las consecuencias de contaminación excepto como puede sentirse ella o él * |
| _____ | _____ | Otras (describirlas) _____ |
| <u>OBSESIONES AGRESIVAS</u> | | |
| _____ | _____ | Temor a poder hacerse daño intencionadamente |
| _____ | _____ | Temor a poder hacer daño a otros intencionadamente |
| _____ | _____ | Temor a ser dañado |
| _____ | _____ | Temor a que otros sufran daños a causa de algo que el/ella haya hecho o dejado de hacer |
| _____ | _____ | Imágenes violentas o terroríficas |
| _____ | _____ | Temor de hacer algo embarazoso * |
| _____ | _____ | Temor a actuar siguiendo impulsos no deseados (ej. apuñalar a un familiar) |
| _____ | _____ | Temor a robar cosas |
| _____ | _____ | Miedo a ser responsable de un desastre (ej. incendio, inundación) |
| _____ | _____ | Otros (describir) _____ |
| <u>OBSESIONES SEXUALES</u> | | |
| _____ | _____ | (¿Estás teniendo pensamientos relacionados con el sexo?. Si es así ¿son pensamientos normales o son pensamientos repetitivos que preferirías no tener o te intranquilizan?. En caso afirmativo: |
| _____ | _____ | Pensamientos, impulsos o imágenes sexuales prohibidos o perversos |
| _____ | _____ | El contenido implica homosexualidad * |
| _____ | _____ | Comportamiento sexual hacia otros (agresivo) * |
| _____ | _____ | Otros (Describir) _____ |

OBSESIONES DE ACAPARAR / COLECCIONAR

| | | |
|-----------------|----------------|---|
| <u>Actuales</u> | <u>Pasadas</u> | Temor a perder algo |
| _____ | _____ | <u>PENSAMIENTOS MAGICOS/OBSESIONES SUPERSTICIOSA</u> |
| _____ | _____ | Números de buena/mala suerte |
| | | Otras (describir)_____ |

OBSESIONES SOMATICAS

| | | |
|-------|-------|---|
| _____ | _____ | Preocupación excesiva por enfermedades o trastornos * |
| _____ | _____ | Preocupación excesiva por alguna parte del cuerpo, o el aspecto o la apariencia (ej. dismorfofobia) * |

OBSESIONES RELIGIOSAS

| | | |
|-------|-------|--|
| _____ | _____ | Preocupación excesiva o miedo a ofender a elementos o figuras religiosas (ej. Dios, blasfemias, sacrilegios) |
| _____ | _____ | Excesiva preocupación por el bien/mal o la moral |
| _____ | _____ | Otros (Describir)_____ |

OBSESIONES DIVERSAS

| | | |
|-------|-------|--|
| _____ | _____ | Necesidad de saber o recordar algo |
| _____ | _____ | Temor a decir determinadas cosas |
| _____ | _____ | Temor a no decir algo con total corrección |
| _____ | _____ | Imágenes intrusivas (no violentas) |
| _____ | _____ | Sonidos, palabras, música o números intrusivos |
| _____ | _____ | Otras (Describir)_____ |

LISTA DE SINTOMAS OBSESIVOS PRINCIPALES

| | |
|-------------------|--|
| OBSESIONES | (Describir, anotando por orden de severidad) |
| 1. | _____ |
| | _____ |
| 2. | _____ |
| | _____ |
| 3. | _____ |
| | _____ |

EVITACION (Describir cualquier comportamiento de evitación asociado a las obsesiones; ej. el chico/a EVITA guardar la ropa para no tener pensamientos obsesivos.)

LISTA DE COMPULSIONES DE LA ESCALA YALE-BROWN

Marque todas las que procedan, pero señale los síntomas principales con una "P".
(Los apartados marcados con "*" pueden ser o no ser síntomas de T.O.C.)

| <u>Actuales</u> | <u>Pasadas</u> | <u>COMPULSIONES DE LAVADO /LIMPIEZA</u> |
|--|----------------|--|
| _____ | _____ | Lavado de manos excesivo o ritualizado |
| _____ | _____ | Excesos o rituales en las rutinas de ducha, baño, lavado de dientes, aseo y/o arreglarse |
| _____ | _____ | Limpieza excesiva de objetos (ej. ropa u objetos personales) |
| _____ | _____ | Otras medidas para prevenir/evitar el contacto con contaminantes |
| _____ | _____ | Otras (Describir)_____ |
| <u>COMPULSIONES DE REVISAR/COMPROBAR</u> | | |
| _____ | _____ | Comprobar cierres, llaves, juguetes, libros/objetos escolares, etc. |
| _____ | _____ | Revisión asociada a lavarse, vestirse o desvestirse |
| _____ | _____ | Comprobar que no se hizo/hará daño |
| _____ | _____ | Comprobar que no hizo/hará daño a otros |
| _____ | _____ | Comprobar que nada terrible ha pasado/pasará |
| _____ | _____ | Revisar que no cometió un error |
| _____ | _____ | Revisión asociada a obsesiones somáticas |
| _____ | _____ | Otras (Describir)_____ |
| <u>COMPULSIONES DE REPETICIÓN</u> | | |
| _____ | _____ | Releer, borrar o reescribir |
| _____ | _____ | Necesidad de repetir actividades de rutina (ej. pasar/retroceder a través de una puerta. Sentarse/levantarse de una silla) |
| _____ | _____ | Otras (Describir)_____ |
| <u>COMPULSIONES DE CONTAR</u> | | |
| _____ | _____ | Objetos, ciertos números, palabras, etc. |
| _____ | _____ | Describir_____ |
| <u>COMPULSIONES DE ORDENAR/COLOCAR</u> | | |
| _____ | _____ | Necesidad de simetría o enrasar (ej. alinear objetos o colocar objetos personales de una forma específica) |
| _____ | _____ | Describir_____ |
| <u>COMPULSIONES DE ACAPARAR /COLECCIONAR</u> | | |
| _____ | _____ | (Distinguir de hobbies y preocupaciones por objetos de valor económico o sentimental) |
| _____ | _____ | Dificultad en tirar cosas a la basura, conservar trozos de papel, cuerdas, objetos inútiles, etc. |
| _____ | _____ | Otras (Describir)_____ |
| <u>JUEGOS MAGICOS EXAGERADOS/COMPORTAMIENTOS SUPERSTICIOSOS</u> | | |
| _____ | _____ | Distinguirlos de juegos mágicos apropiados a la edad (Ej. comportamientos preestablecidos como pisar rayas del suelo, o tocar un objeto o a sí mismo un cierto número de veces como rutina para evitar que ocurra algo malo) |
| _____ | _____ | Describir_____ |

| <u>Actuales</u> | <u>Pasados</u> | <u>RITUALES QUE INCLUYAN A OTRAS PERSONAS</u> |
|-----------------|----------------|---|
| _____ | _____ | Necesidad de incluir a otras personas (generalmente uno de los padres) en un ritual (ej. hacerle que conteste repetidamente las mismas preguntas, hacer que el progenitor realice ciertos rituales como usar utensilios específicos en las comidas)* Describir _____ |
| _____ | _____ | <u>MISCELANEA DE COMPULSIONES</u> |
| _____ | _____ | Rituales mentales (aparte de contar) |
| _____ | _____ | Necesidad de decir, preguntar, o confesar algo |
| _____ | _____ | Medidas para prevenir (diferentes a revisiones) daño a sí mismo _____ a otros _____, consecuencias catastróficas _____ |
| _____ | _____ | Comportamiento ritualizado para comer * |
| _____ | _____ | Excesiva elaboración de listas * |
| _____ | _____ | Necesidad de tocar, frotar, dar palmas, repicar con los dedos |
| _____ | _____ | Necesidad de hacer algo (ej. ordenar o tocar) hasta que <u>lo sienta</u> bien hecho * |
| _____ | _____ | Rituales que incluyen parpadear o mirar fijamente * |
| _____ | _____ | Tricotilomanía (tirarse de los pelos) * |
| _____ | _____ | Otros comportamientos autohirientes o automutilantes * |
| _____ | _____ | Otros (Describir) _____ |

LISTA DE SINTOMAS COMPULSIVOS PRINCIPALES

COMPULSIONES (Describir, anotando por orden de severidad)

1. _____

2. _____

3. _____

4. _____

EVITACION (Describir cualquier comportamiento de evitación asociado a las compulsiones; ej. el chico/a EVITA guardar la ropa para prevenir el comienzo de una compulsión de contar, colocar u ordenar.)

ESCALA YALE-BROWN DE OBSESIONES Y COMPULSIONES (6-17 años)**PUNTUACION TOTAL (suma ítems 1-10 sin 1B ni 6B)**

| | ninguno | leve | moderado | severo | extremo |
|---|-------------------|------------|---------------|------------|----------------|
| 1. TIEMPO OCUPADO EN OBSESIONES | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1. 1B. INTERVALO LIBRE DE OBSESIONES (No añadir a la puntuación subtotal ni total) | Sin síntomas 0 | Largo 1 | Moderado 2 | Corto 3 | Muy corto 4 |
| 2. INTERFERENCIA POR LAS OBSESIONES | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. MALESTAR ASOCIADO A LAS OBSESIONES | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. RESISTENCIA A LAS OBSESIONES | Siempre 0 | 1 | 2 | 3 | Nunca 4 |
| 5. CONTROL SOBRE LAS OBSESIONES | Completo 0 | Mucho 1 | Moderado 2 | Poco 3 | Ninguno 4 |

SUBTOTAL DE OBSESIONES Sumar ítems 1 a 5 sin el 1B _____

| | ninguno | leve | moderado | severo | extremo |
|--|-------------------|------------|---------------|------------|----------------|
| 6. TIEMPO OCUPADO EN COMPULSIONES | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 6B. INTERVALO LIBRE DE COMPULSIONES (No añadir a la puntuación subtotal ni total) | Sin síntomas 0 | Largo 1 | Moderado 2 | Corto 3 | Muy corto 4 |
| 7. INTERFERENCIA POR LAS COMPULSIONES | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 8. MALESTAR ASOCIADO A LAS COMPULSIONES | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 9. RESISTENCIA A LAS COMPULSIONES | Siempre 0 | 1 | 2 | 3 | Nunca 4 |
| 10. CONTROL SOBRE LAS COMPULSIONES | Completo 0 | Mucho 1 | Moderado 2 | Poco 3 | Ninguno 4 |

SUBTOTAL DE COMPULSIONES Sumar ítems 1 a 5 sin el 1B _____

| | | | | | |
|----------------------------------|----------------|------------|---------------|-------------|--------------|
| 11. AUTOCONCIENCIA SINTOMAS O-C | excelente 0 | 1 | 2 | 3 | ausente 4 |
| 12. EVITACION | ninguna 0 | leve 1 | moderado 2 | severo 3 | extremo 4 |
| 13. INDECISION | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 14. RESPONSABILIDAD SOBREALORADA | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 15. LENTITUD / INERCIA | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 16. DUDA PATOLOGICA | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 17. SEVERIDAD GLOBAL | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 18. MEJORIA GLOBAL | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 19. GRADO DE CONFIANZA | excelente 0 | buena 1 | mediana 2 | escasa 3 | |

9.4.Scared padres e hijos

SCARED (Birmaher et al., 1997) Versión NIÑOS

Instrucciones: Lee atentamente cada uno de las siguientes preguntas y después marca con una cruz la opción que más se adecue con lo que a ti te haya pasado o como te hayas sentido en los últimos **3 meses**.

| | | CASI NUNCA | A VECES | MUY A MENUDO |
|----|---|---------------|------------|-----------------|
| 1 | Cuando estoy asustado/a, me cuesta respirar. | | | |
| 2 | Me duele la cabeza cuando estoy en la escuela. | | | |
| 3 | No me gusta estar con personas que no conozco demasiado. | | | |
| 4 | Tengo miedo cuando duermo fuera de casa. | | | |
| 5 | Me preocupa no ser aceptado/a por los demás. | | | |
| 6 | Cuando estoy asustado/a, siento como si me desmayara. | | | |
| 7 | Soy nervioso/a. | | | |
| 8 | Sigo a mi madre o a mi padre a todas partes. | | | |
| 9 | La gente dice que parezco nervioso/a. | | | |
| 10 | Me siento nervioso/a cuando estoy con gente que no conozco demasiado. | | | |
| 11 | Me duele la barriga cuando estoy en la escuela. | | | |
| 12 | Cuando me asusto, siento como si me estuviera volviendo loco/a. | | | |
| 13 | Me preocupa dormir solo/a. | | | |
| 14 | Me preocupa no ser tan bueno/a como los otros niños. | | | |
| 15 | Cuando me asusto, siento como si las cosas no fueran reales. | | | |
| 16 | Tengo pesadillas sobre desgracias que les pueden pasar a mis padres. | | | |
| 17 | Me preocupa ir a la escuela. | | | |
| 18 | Cuando estoy asustado/a, mi corazón late deprécia. | | | |
| 19 | Me siento tembloroso | | | |
| 20 | Tengo pesadillas sobre desgracias que me pueden pasar.. | | | |
| 21 | Me preocupo por que las cosas me salgan bien. | | | |
| 22 | Cuando estoy asustado, sudo mucho. | | | |
| 23 | Me preocupo por todo. | | | |
| 24 | Me asusto sin motivo. | | | |
| 25 | Tengo miedo de quedarme solo/a en casa. | | | |
| 26 | Me cuesta hablar con personas que no conozco demasiado. | | | |
| 27 | Cuando estoy asustado/a, siento como si me ahogara. | | | |
| 28 | La gente dice que me preocupo demasiado. | | | |
| 29 | No me gusta estar lejos de mi familia. | | | |
| 30 | Tengo miedo de tener ataques de pánico. | | | |
| 31 | Me preocupa que le pueda pasar alguna desgracia a mis padres. | | | |
| 32 | Soy tímido/a con las personas que no conozco. | | | |
| 33 | Me preocupo por lo que pasará en el futuro. | | | |
| 34 | Cuando estoy asustado/a, tengo ganas de vomitar. | | | |
| 35 | Me preocupo por hacer bien las cosas. | | | |
| 36 | Me asusta ir a la escuela. | | | |
| 37 | Me preocupo por cosas que ya han pasado. | | | |
| 38 | Cuando estoy asustado/a, me siento mareado/a. | | | |
| 39 | Me siento nervioso/a cuando estoy con otros niños/as o adultos y tengo que hacer algo mientras ellos/as me miran (por ejemplo: leer en voz alta, hablar, jugar, practicar algún deporte, etc.). | | | |
| 40 | Me pongo nervioso/a por ir a fiestas, bailes o cualquier otro lugar en el que habrá gente que no conozco. | | | |
| 41 | Soy tímido/a. | | | |

SCARED (Birmaher et al., 1997) Versión PADRES

Instrucciones: Por favor, lea atentamente cada uno de los siguientes ítems y después marque con una cruz la opción que más se adecue al **comportamiento de su hijo/a en los últimos 3 meses**.

| | | FRECUENCIA CON QUE LE PASA | | |
|----|---|----------------------------|---------|--------------|
| | | CASI NUNCA | A VECES | MUY A MENUDO |
| 1 | Cuando está asustado (nervioso) le cuesta respirar. | | | |
| 2 | Le duele la cabeza cuando está en la escuela. | | | |
| 3 | No le gusta estar con personas que no conoce demasiado. | | | |
| 4 | Tiene miedo cuando duerme fuera de casa. | | | |
| 5 | Le preocupa el hecho de no ser aceptado/a por los demás. | | | |
| 6 | Cuando está asustado (nervioso) siente como si se desmayara. | | | |
| 7 | Mi hijo/a es nervioso/a. | | | |
| 8 | Nos sigue (al padre y a la madre) a todos los sitios. | | | |
| 9 | La gente dice que mi hijo/a parece nervioso/a. | | | |
| 10 | Se siente nervioso/a cuando está con gente que no conoce demasiado. | | | |
| 11 | Le duele la barriga cuando está en el colegio. | | | |
| 12 | Cuando está asustado (nervioso) siente como si estuviera volviéndose loco/a. | | | |
| 13 | Le preocupa dormir solo/a. | | | |
| 14 | Se preocupa por no ser tan bueno como otros niños/as. | | | |
| 15 | Cuando está asustado (nervioso) siente como si las cosas no fueran reales. | | | |
| 16 | Tiene pesadillas sobre desgracias que nos pueden pasar (a sus padres). | | | |
| 17 | Le preocupa ir a la escuela. | | | |
| 18 | Cuando está asustado (nervioso) su corazón late deprisa. | | | |
| 19 | Se encuentra tembloroso. | | | |
| 20 | Tiene pesadillas sobre desgracias que le pueden pasar (a él). | | | |
| 21 | Se preocupa por que las cosas le salgan bien. | | | |
| 22 | Cuando está asustado (nervioso) suda mucho. | | | |
| 23 | Se preocupa por todo. | | | |
| 24 | Se asusta sin motivo. | | | |
| 25 | Tiene miedo de quedarse solo/a en casa. | | | |
| 26 | Le cuesta hablar con personas que no conoce demasiado. | | | |
| 27 | Cuando está asustado (nervioso) siente como si se ahogara. | | | |
| 28 | La gente dice que mi hijo/a se preocupa demasiado. | | | |
| 29 | No le gusta estar lejos de su familia. | | | |
| 30 | Tiene miedo de sufrir ataques de angustia (pánico). | | | |
| 31 | Le preocupa que nos pueda pasar (a sus padres) alguna desgracia. | | | |
| 32 | Es tímido/a con las personas que no conoce. | | | |
| 33 | Se preocupa por lo que pasará en el futuro. | | | |
| 34 | Cuando está asustado (nervioso) tiene ganas de vomitar. | | | |
| 35 | Se preocupa por hacer bien las cosas. | | | |
| 36 | Le asusta ir a la escuela. | | | |
| 37 | Se preocupa por cosas que ya han pasado. | | | |
| 38 | Cuando está asustado (nervioso) se siente mareado/a. | | | |
| 39 | Se siente nervioso cuando está con otros niños/as o adultos y tiene que hacer algo mientras ellos/as le miran (por ejemplo: leer en voz alta, hablar, jugar, practicar algún deporte, etc). | | | |
| 40 | Se pone nervioso/a por ir a fiestas, bailes o cualquier otro lugar en el que habrá gente que no conoce. | | | |
| 41 | Mi hijo/a es tímido/a. | | | |

9.5. Escala de evaluación gravedad enfermedad (CGI)

Mejoría global (CGI-GI)

Comparado con el estado inicial, ¿cómo se encuentra el paciente en estos momentos? (Puntúe la mejoría total independientemente de que a su juicio se deba o no por completo al tratamiento)

- 0. No evaluado
- 1. Mucho mejor
- 2. Moderadamente mejor
- 3. Levemente mejor
- 4. Sin cambios
- 5. Levemente peor
- 6. Moderadamente peor
- 7. Mucho peor

Escala CGI de Evaluación de gravedad de la enfermedad (CGI-G)

Considerando toda su experiencia clínica, ¿cuál es en su opinión el grado de enfermedad en el paciente en este momento? (Señale con una cruz la respuesta que mejor corresponda):

- 0 No valorado
- 1 Normal, sin enfermedad
- 2 Muy levemente enfermo
- 3 Levemente enfermo
- 4 Moderadamente enfermo
- 5 Marcadamente enfermo
- 6 Gravemente enfermo
- 7 Extremadamente enfermo

9.6. Escalas CGAS/EEAG

ESCALA DE VALORACIÓN GLOBAL DEL NIÑO (CGAS)
(Shaffer, Gould, Brasic, Ambrosini, Fisher, Bird y Aluwahlia, 1983)

Evalúe el nivel de funcionamiento general más deteriorado del sujeto durante el período de tiempo especificado. Seleccione el nivel *más bajo* que describe su funcionamiento en un hipotético *continuun* de salud-enfermedad. Utilice niveles intermedios (ej. 35, 58, 62). Juzgue el comportamiento actual independientemente del tratamiento o pronóstico. Los ejemplos de conducta que se presentan son sólo ilustrativos y no son precisos para una determinada valoración.

Período de tiempo especificado 1 mes

| | |
|--------|---|
| 100-91 | Funcionamiento excelente en todas las áreas (en casa, en la escuela y con los compañeros); está involucrado en un amplio rango de actividades y tiene muchos intereses (ej. tiene hobbies o participa en actividades extraescolares o pertenece a una organización como los Scouts, etc.); simpático, seguro; las preocupaciones de cada día nunca le hacen perder el control; va bien en el colegio; no hay síntomas. |
| 90-81 | Buen funcionamiento en todas las áreas. Bien adaptado en la familia, escuela y con los compañeros; puede haber dificultades transitorias y las preocupaciones de cada día le hacen perder el control ocasionalmente (ej. ansiedad leve asociada con un examen importante, ocasionalmente estallidos de cólera con los hermanos, padres o compañeros). |
| 80-71 | No más que un ligero deterioro en el funcionamiento en casa, en la escuela o con los compañeros; puede presentar alguna alteración de la conducta o problema emocional en respuesta a las tensiones (estrés) de la vida (ej. separación de los padres, muertes, nacimiento de un hermano), pero son breves y la interferencia en el funcionamiento es transitoria; para los demás, estos niños están sólo mínimamente alterados y los que les conocen no los consideran patológicos. |
| 70-61 | Alguna dificultad en un área determinada, pero en general el funcionamiento es medianamente bueno (ej. actos antisociales esporádicos o aislados, como hacer novillos ocasionalmente o pequeños robos; pequeñas dificultades consistentes en el rendimiento escolar; cambios de humor de pequeña duración; miedos y ansiedades que no producen una notoria conducta de evitación; desconfianza en sí mismo); tiene alguna relación interpersonal significativa; la mayoría de las personas que no conocen bien al niño no le considerarían patológico pero los que le conocen bien pueden expresar preocupación. |
| 60-51 | Funcionamiento variable con dificultades esporádicas o síntomas en varias pero no todas las áreas sociales; la alteración es aparente para aquellos que se encuentran al niño en un ambiente o momento de mal funcionamiento pero no para aquellos que se encuentran al niño en otros ambientes. |
| 50-41 | Grado moderado de interferencia en el funcionamiento en la mayoría de áreas sociales o grave deterioro del funcionamiento en un área, como puede resultar, por ejemplo, de las preocupaciones y rumiaciones suicidas, rechazo escolar y otras formas de ansiedad, rituales obsesivos, síntomas mayores de conversión, ataques frecuentes de ansiedad, habilidades sociales pobres o inapropiadas, episodios frecuentes de agresividad y conducta antisocial con la conservación de relaciones sociales significativas. |
| 40-31 | Grave deterioro en el funcionamiento en varias áreas e incapacidad para funcionar en una de estas áreas: problemas en casa, en la escuela y con los compañeros, o en la sociedad en general, por ejemplo, agresiones persistentes sin clara instigación; marcada conducta de retraimiento y aislamiento debida a trastornos del humor o del pensamiento, intentos de suicidio con claros intentos letales; estos niños pueden requerir escolarización especial u hospitalización o no pueden ir a la escuela (pero este no es un criterio suficiente para la inclusión en esta categoría). |
| 30-21 | Incapacidad para funcionar en casi todas las áreas, por ejemplo, está en casa, en la sala del hospital, o en la cama todo el día sin tomar parte en actividades sociales, o grave deterioro en el análisis de la realidad o serio deterioro en la comunicación (ej. algunas veces incoherente o inapropiado), |
| 20-11 | Necesita considerable supervisión para evitar que hiera a otros o a sí mismo (ejemplo, frecuentemente violento, repetidos intentos de suicidio) o para mantener la higiene personal o gran deterioro en todas las formas de comunicación, por ejemplo, graves anomalías en la comunicación verbal o gestual, marcada indiferencia social, estupor, etc. |
| 10-1 | Necesita constante supervisión (cuidado las 24 horas) debido a la grave conducta agresiva o autodestructiva, o grave deterioro en el análisis de la realidad, comunicación, cognición, afecto, o higiene personal. |

Actual

Evalúe el nivel general de funcionamiento del sujeto de las últimas dos semanas seleccionando el nivel que describa su funcionamiento en un continuo hipotético de salud-enfermedad.

ESCALA DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD GLOBAL (EEAG>12 años)

Hay que considerar la actividad psicológica, social y laboral a lo largo de un hipotético continuum salud-enfermedad. No hay que incluir alteraciones de la actividad debidas a limitaciones físicas (o ambientales)

100-91 Actividad satisfactoria en una amplia gama de actividades, nunca parece superado/a por los problemas de la vida, es valorado/a por los demás a causa de sus abundantes cualidades positivas. Sin síntomas.

90- 81 Síntomas ausentes o mínimos (por ej., ligera ansiedad antes de un examen), **buena actividad en todas las áreas, interesado/a e implicado/a en una amplia gama de actividades, socialmente eficaz, generalmente satisfecho/a de su vida, sin más preocupaciones o problemas que los cotidianos** (por ej., una discusión ocasional con miembros de la familia).

80- 71 Si existen síntomas, son transitorios y constituyen reacciones esperables ante agentes estresantes psicosociales (por ej., dificultades para concentrarse tras una discusión familiar); **solo existe una ligera alteración de la actividad social, laboral o escolar** (por ej., descenso temporal del rendimiento escolar).

70- 61 Algunos síntomas leves (por ej., humor depresivo e insomnio ligero) **o alguna dificultad en la actividad social, laboral o escolar** (por ej., hacer novillos ocasionalmente o robar algo en casa), **pero en general funciona bastante bien, tiene algunas relaciones interpersonales significativas.**

60- 51 Síntomas moderados (por ej., afecto aplanado y lenguaje circunstancial, crisis de angustia ocasionales) **o dificultades moderadas en la actividad social, laboral o escolar** (por ej., pocos amigos, conflictos con compañeros de trabajo o escuela).

50- 41 Síntomas graves (por ej., ideación suicida, rituales obsesivos graves, robos en tiendas) **o cualquier alteración grave de la actividad social, laboral o escolar** (por ej., sin amigos, incapaz de mantenerse en un empleo).

40- 31 Una alteración de la verificación de la realidad o de la comunicación (por ej., el lenguaje es a veces ilógico, oscuro o irrelevante) **o alteración importante en varias áreas como el trabajo escolar, las relaciones familiares, el juicio, el pensamiento o el estado de ánimo** (por ej., un hombre depresivo evita a sus amigos, abandona la familia y es incapaz de trabajar; un niño golpea frecuentemente a niños más pequeños, es desafiante en casa y deja de acudir a la escuela).

30- 21 La conducta está considerablemente influida por ideas delirantes o alucinaciones o existe una alteración grave de la comunicación o el juicio (por ej., a veces es incoherente, actúa de manera claramente inapropiada, preocupación suicida) **o incapacidad para funcionar en casi todas las áreas** (por ej., permanece en la cama todo el día; sin trabajo, vivienda o amigos).

20- 11 Algún peligro de causar lesiones a otros o a sí mismo (por ej., intentos de suicidio sin una expectativa manifiesta de muerte; frecuentemente violento; excitación maníaca) **u ocasionalmente deja de mantener la higiene personal mínima** (por ej., con manchas de excrementos) **o alteración importante de la comunicación** (por ej., muy incoherente o mudo).

10- 1 Peligro persistente de lesionar gravemente a otros o a sí mismo (por ej., violencia recurrente) **o incapacidad persistente para mantener la higiene personal mínima o acto suicida grave con expectativa manifiesta de muerte.**

0 Información inadecuada

9.7. Escala UKU efectos secundarios

Marque con la puntuación que mejor corresponda a cada ítem. Cumplimentar en todos los pacientes todos los ítems.

| Tipo de efecto | Síntoma | No ev. | Gravedad (**) | Relación causal (***) | Tipo de efecto | Síntoma | No ev. | Gravedad (**) | Relación causal (***) |
|----------------|---------------------------------|--------|---------------|-----------------------|------------------------------------|----------------------------------|---------|---------------|-----------------------|
| PSÍQUICO | Dificultad concentración | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | OTROS | Rash | | | |
| | Astenia/Laxitud/Fatigabilida... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | morbiliforme | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 |
| | Somnolencia/Sedación | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | petequeal..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 |
| | Alteraciones amnésicas..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | urticarial..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 |
| | Depresión | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | psoriásico..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 |
| | Tensión/Inquietud | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | inclasificable..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 |
| | Aumento duración sueño..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | Prurito | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 |
| | Disminución duración sueño.. | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | Fotosensibilidad..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 |
| | Aumento de los sueños | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | Aumento de la pigmentación | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 |
| | Indiferencia emocional..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | Aumento de peso..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 |
| NEUROLÓGICO | Distonía | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Pérdida de peso..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Rigidez | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Menorragia..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Hipocinesia/Acinesia | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Amenorrea..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Hipercinesia..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Galactorrea..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Temblor | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Ginecomastia..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Acatisia..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Aumento del deseo sexual .. | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Convulsiones epilépticas | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Disminución del deseo sexual | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Parestesias..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Disfunción eréctil | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| AUTONÓMICO | Trastornos acomodación | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Disfunción eyaculatoria..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Aumento salivación | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Disfunción orgásmica | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Disminución salivación | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Lubricación vaginal..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Náusea/Vómito | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Cefalea | | | | |
| | Diarrea..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | tensional..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Estreñimiento..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | migrañosa | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Alteraciones micción..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | otras formas | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Poliuria/Polidipsia | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Dependencia física | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Vértigo ortostático..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | Dependencia psíquica | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | |
| | Palpitaciones/Taquicardia | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | | | | |
| | Aumento de la sudoración..... | 9 | 0 1 2 3 | 0 1 2 | | | | | |

No ev.= No evaluable (**) 0=Ausente (***) 0= Improbable
 1= Leve 1= Posible
 2= Moderado 2= Probable
 3= Grave

VALORACIÓN DE LA INTERFERENCIA DE LOS EFECTOS SECUNDARIOS SOBRE EL FUNCIONAMIENTO DIARIO DEL PACIENTE

| | Evaluador | | Consecuencia | Evaluador | |
|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--|--------------------------|--------------------------|
| | Paciente | Médico | | Paciente | Médico |
| 0 : Sin efectos secundarios | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 0 : Ninguna acción | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 1 : Sin interferencia significativa | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 1 : No reducción dosis/tratamiento efectos secundarios | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2 : Interferencia moderada | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 2 : Reducción dosis | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3 : Interferencia marcada | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 3 : Retirada medicación o cambio | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |