



# UNIVERSIDAD DE MURCIA

## ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Asociación de las variantes del *NRXN1*  
y los trastornos del Espectro Psicótico:  
un Estudio Meta-Analítico

**D. Pedro Gurillo Muñoz**  
**2016**



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**

**FACULTAD DE PSICOLOGÍA**

Asociación de las variantes del *NRXN1*  
y los Trastornos del Espectro Psicótico:  
un estudio Meta-analítico

**D. Pedro Gurillo Muñoz**

2016

## Co-Directores de Tesis:

**Dr. Julio Sánchez Meca**

**Dr. Fernando Navarro Mateu**

Al recuerdo de mi hermano,  
que estará siempre presente

*A Cristian*

## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer, en estas líneas, la ayuda que muchas personas me han prestado antes y durante el proceso de investigación y redacción de este trabajo.

En primer lugar, quisiera agradecer a mi director de tesis, el Dr. Fernando Navarro, el haberme animado y motivado a realizar el proyecto de doctorado, y a sentir admiración y deseos de participación activa en el mundo de la investigación. Así mismo, reconocer mi gratitud a mi otro director de tesis, el Dr. Julio Sánchez Meca, por facilitarme y guiarme durante todo este proceso, y a mi compañera de tesis, la Psiquiatra Techa Bernal, por apoyarme e inspirarme con su motivación.

Es importante para mí, reconocer la labor personal y profesional que ha tenido mi tutora la Psiquiatra Isabel Lázaro, durante y después de mi Residencia en Psiquiatría, al haberme orientado en todos los momentos que necesité sus consejos e inculcarme valores que tengo muy presentes.

Mencionar el apoyo que me han mostrado mis amigos y compañeros de trabajo durante estos años, dándome palabras de apoyo y siendo comprensivos con mis sacrificios.

Y por último y concluyo: gracias a mi familia, por su paciencia y comprensión durante las muchas horas que les he robado.

*“Es de importancia para quien desee alcanzar una certeza en su investigación, el saber dudar a tiempo.”*

Aristóteles

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL .....	5
ÍNDICE DE TABLAS .....	8
ÍNDICE DE FIGURAS .....	9
TESAURO.....	11
A. INTRODUCCIÓN .....	16
A.1) Psicosis. Concepto .....	16
A.2) Psicosis. Diagnóstico .....	17
A.2.a) Evolución del diagnóstico de Psicosis .....	17
A.2.b) Diagnóstico diferencial de los Trastornos Psicóticos .....	21
A.2.c) Criterios diagnósticos de los Trastornos Psicóticos.....	21
A.3) Epidemiología de la Esquizofrenia .....	22
A.3.a) Incidencia de la Esquizofrenia.....	22
A.3.b) Prevalencia de la Esquizofrenia.....	23
A.3.c) Datos epidemiológicos de los Primeros Episodios Psicóticos.....	24
A.4) Impacto socio-económico de la Esquizofrenia .....	24
A.4.a) Coste económico.....	24
A.4.b) Coste social.....	25
A.5) Etiopatogenia .....	26
A.5.a) Factores de riesgo de la Esquizofrenia .....	28
A.5.b) Neuroquímica de la Esquizofrenia.....	31
A.5.c) Bases genéticas de la Esquizofrenia .....	39
A.5.d) Fenotipos alternativos y endofenotipos de la Esquizofrenia .....	45
A.6) Análisis genético en la esquizofrenia. Herramientas moleculares.....	52
A.6.a) Estudios citogenéticos .....	52
A.6.b) Estudios de asociación genómica completa.....	55
A.6.c) Estudios de ligamiento.....	57
A.6.d) Estudios de asociación de los genes candidatos .....	61
A.7) Epigenética y esquizofrenia .....	69
A.7.a) Chips de ADN.....	71
A.7.b) Proteómica .....	74
A.8) La neurona. Concepto .....	78
A.9) La sinapsis.....	79

A.9.a) Concepto.....	79
A.9.b) Estructura.....	81
A.9.c) Funcionalidad .....	82
A.10) Las neurexinas.....	84
A.10.a) Concepto.....	84
A.10.b) Estructura .....	84
A.10.c) Expresión.....	86
A.11) Las neurogilinas. Ligandos de las neurexinas.....	86
A.12) Complejo neurexina/neurogilina transináptico. Estructura.....	87
A.13) Neurexinas. Función.....	88
B. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....	91
B.1) Neurexinas y Trastornos del espectro psicótico (TEP).....	91
B.2) Objetivo .....	93
C. METODOLOGÍA .....	95
C.1) Estrategia de búsqueda.....	95
C.2) Criterios de inclusión y exclusión.....	95
C.3) Extracción de datos .....	96
C.4) Calidad de los estudios .....	97
C.5) Análisis estadístico .....	99
D. RESULTADOS .....	103
D.1. Meta-análisis de la asociación las variantes del gen <i>NRXNI</i> .....	105
D.1.a) Alteraciones genéticas del <i>NRXNI</i> .....	105
D.1.b) Regiones genéticas del <i>NRXNI</i> .....	108
D.2. Análisis de sensibilidad .....	108
D.2.a) Meta-análisis de las deleciones.....	108
D.2.b) Meta-análisis de la región exónica .....	108
D.2.c) Meta-análisis de la región intrónica.....	109
D.3. Calidad de los estudios .....	113
D.4. Sesgo de publicación .....	116
D.4.a) Deleciones en <i>NRXNI</i> .....	116
D.4.b) Duplicaciones en <i>NRXNI</i> .....	119
D.4.c) Variantes en <i>NRXNI</i> .....	120
D.4.d) Región codificante (exón) del <i>NRXNI</i> .....	121

D.4.e) Región no codificante (intrón) del <i>NRXN1</i> .....	124
D.4.f) Región promotora del <i>NRXN1</i> .....	128
C. DISCUSIÓN.....	131
F. CONCLUSIONES .....	138
G. REFERENCIAS .....	140
ANEXO 1: Manual de codificación de variables moderadoras .....	165
I.    Introducción.....	166
II.   Variables .....	166
III.  Análisis unitario.....	167
IV.  Explicación de variables .....	167
V.   Variables de sujeto.....	169
VI.  Variables de la enfermedad .....	169
VII.  Características del marcador genético .....	171
VIII. Variables metodológicas.....	172
IX.  Variables resultado .....	175
ANEXO 2: Lista de PRISMA .....	176



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Factores de riesgo para la esquizofrenia.....	30
Tabla 2: Factores de riesgo para la esquizofrenia.....	31
Tabla 3: Características de los estudios de asociación seleccionados para el meta-análisis de las variantes del <i>NRXNI</i> y los TEP.....	106
Tabla 4: Frecuencias de los tipos de alteración y región genética alterada del gen <i>NRXNI</i> de los estudios incluidos.....	107
Tabla 5: Descripción de los criterios de calidad de los estudios de asociación incluidos para el meta-análisis de las variantes del <i>NRXNI</i> y los TEP.....	114
Tabla 6: Análisis por subgrupos de los criterios de calidad según el exón del <i>NRXNI</i> . .....	115
Tabla 7-A: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre las deleciones en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP). ....	117
Tabla 7-B: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre las deleciones en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez eliminado el estudio de Rujescu et al (2009). ....	118
Tabla 8: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre las duplicaciones y los trastornos del espectro psicótico (TEP). ....	120
Tabla 9: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre las variantes del <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP). ....	121
Tabla 10-A: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre la región codificante (exón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP). ....	122
Tabla 10-B: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre la región codificante (exón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez excluido el estudio de Rujescu et al. (2009). ....	124
Tabla 11-A: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre la región no codificante (intrón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP). ....	125
Tabla 11-B: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre la región no codificante (intrón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez excluido el estudio de Rujescu et al. (2009). ....	127
Tabla 12: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre la región promotora y los trastornos del espectro psicótico (TEP). ....	129

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Vías dopaminérgicas.....	34
Figura 2: La sinapsis.....	81
Figura 3: Estructura de las neurexinas.....	85
Figura 4: Diálogo transináptico.....	88
Figura 5: Flujograma del proceso de búsqueda y valoración de selección de los estudios. .....	104
Figura 6-A: Forest plot de las deleciones en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	109
Figura 6-B: (sin estudio de Rujescu et al, [2009]): Forest plot de las deleciones en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP). ....	109
Figura 7: Forest plot de las duplicaciones en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	110
Figura 8: Forest plot de las variantes en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP). ....	110
Figura 9-A: Forest plot de la región codificante (exón) en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	111
Figura 9-B: Forest plot de la región codificante (exón) en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP). ....	111
Figura 10-A: Forest plot de la región no codificante (intrón) en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	112
Figura 10-B: Forest plot de la región no codificante (intrón) en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP). ....	112
Figura 11: Forest plot de la región promotora en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	113
Figura 12-A: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre las deleciones en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	116
Figura 12-B: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre las deleciones en <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez eliminado el estudio de Rujescu et al (2009)....	118

Figura 13: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre las duplicaciones y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	119
Figura 14: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre las variantes del <i>NRXNI</i> y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	120
Figura 15-A: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre la región codificante (exón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	122
Figura 15-B: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre la región codificante (exón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez excluido el estudio de Rujescu et al. (2009).....	123
Figura 16-A: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre la región no codificante (intrón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	125
Figura 16-B: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre la región no codificante (intrón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez excluido el estudio de Rujescu et al. (2009).....	127
Figura 17: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre la región promotora y los trastornos del espectro psicótico (TEP).....	128

## TESAURO

ACE: Abordaje Clínico de la Esquizofrenia.

ADN: Ácido desoxirribonucleico, es un ácido nucleico que contiene las instrucciones genéticas usadas en el desarrollo y funcionamiento de todos los organismos vivos conocidos, y es responsable de su transmisión hereditaria.

Agonista: Sustancia que es capaz de unirse a un receptor celular y provocar una acción determinada en la célula generalmente similar a la producida por una sustancia fisiológica.

Alelo: Cada una de las formas alternativas que puede tener un mismo gen que se diferencian en su secuencia y que se puede manifestar en modificaciones concretas de la función de ese gen.

Aneuploidía: Ausencia o exceso de cromosomas.

Antagonista: Tipo de ligando que bloquean la unión de un agonista a una molécula de receptor, inhibiendo la señal producida por un acoplamiento receptor-agonista.

APA: Asociación americana de psiquiatría (American Psychiatric Association).

Área promotora: Región de ADN que controla la iniciación de la transcripción de una determinada porción del ADN a ARN.

Área codificante o exón: Región de un gen que no es separada durante el proceso de corte y empalme y, por tanto, se mantienen en el ARN mensajero maduro. Contiene la información para producir la proteína codificada en el gen.

Área no codificante o intrón: Fragmento de ADN que está presente en un gen pero que no codifica ningún fragmento de la proteína. Los intrones son eliminados en el proceso de maduración del ARN.

ARNm: Ácido ribonucleico que transfiere el código genético, determina el orden en que se unirán los aminoácidos de una proteína y actúa como plantilla o patrón para la síntesis de dicha proteína.

CDCV: enfermedad común/variante común (common disease/common variant).

CDRV enfermedad común/variante rara (common disease/rare variant).

CIE: Clasificación Internacional de Enfermedades.

Citogenética: Campo de la genética que comprende el estudio de la estructura, función y comportamiento de los cromosomas.

CNV: Variaciones en el número de copias (copy number variants).

**Cromosoma:** Cada una de las estructuras altamente organizadas, formadas por ADN y proteínas, que contiene la mayor parte de la información genética de un individuo.

**Chips de ADN:** Superficie sólida a la cual se une una colección de fragmentos de ADN y se usan para analizar la expresión diferencial de genes, y se monitorean de manera simultánea los niveles de miles de ellos.

**Deleciones:** Pérdida de un fragmento de ADN de un cromosoma.

**Dopamina:** Neurotransmisor.

**DSM:** Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales.

**Duplicación:** Repetición de un fragmento de cromosoma a continuación del fragmento original.

**Endofenotipo:** O fenotipos intermedio, son rasgos objetivos, hereditarios, cuantitativos presumidos para representar el riesgo genético para los trastornos poligénicos en los niveles más manejables biológicamente frente a los fenotipos clínicos.

**Esquizotipia:** Continuum de características de la personalidad y experiencias relacionadas con la psicosis y, en particular, con la esquizofrenia.

**Esquizotaxia:** Síndrome caracterizado por alteraciones neuropsicológicas y síntomas negativos, que podría detectarse en familiares de pacientes esquizofrénicos.

**Estudios GWAS:** estudios de asociación del genoma completo.

**Fenotipo:** Expresión del genotipo en función de un determinado ambiente. Es cualquier característica o rasgo observable de un organismo, como su morfología, desarrollo, propiedades bioquímicas, fisiología y comportamiento.

**GABA:** Neurotransmisor inhibitorio.

**Gen:** Unidad de información en un locus de Ácido desoxirribonucleico (ADN) que codifica un producto funcional, o Ácido ribonucleico (ARN) o proteínas y es la unidad de herencia molecular.

**Genoma:** Conjunto de genes contenidos en los cromosomas, lo que puede interpretarse como la totalidad de la información genética que posee un organismo o una especie en particular.

**Glutamato:** Neurotransmisor excitatorio.

**Haplotipo:** Combinación de alelos de diferentes loci de un cromosoma que son transmitidos juntos. Un haplotipo puede ser un locus, varios loci, o un cromosoma entero dependiendo del número de eventos de recombinación que han ocurrido entre un conjunto dado de loci.

**Heterocigosidad:** Medida de la variación genética de una población respecto a un locus.

Inserción: Mutación que implica la adición de material genético.

Inversiones: Cambio estructural por el cual un segmento cromosómico cambia de sentido dentro del propio cromosoma con relación a una secuencia considerada como típica.

Líquido cefalorraquídeo (LCR): Líquido que baña el encéfalo y la médula espinal.

*Loci* cromosómico: Plural de locus.

Locus cromosómico: Una posición fija en un cromosoma, como la posición de un gen o de un marcador (marcador genético).

MAF: Frecuencia del alelo menos común. Consiste en la frecuencia del alelo menos común en un determinado locus, dentro de una población. También puede definirse como la frecuencia del segundo alelo más frecuente, en el caso de tener dos o más alelos para ese locus concreto.

Neurexina: Proteína que expresa el gen *NRXN1*.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

Ondas P50 y P300: Potencial evocado que puede ser registrado mediante electroencefalografía.

OR: Odds ratio, razón de oportunidades o razón de probabilidades, es una medida estadística que se define como la posibilidad de que una condición de salud o enfermedad se presente en un grupo de población frente al riesgo de que ocurra en otro.

PAS: Cuestionario de Evaluación de la Personalidad (Personality Assessment Schedule).

Pleiotropía: Fenómeno por el cual un sólo gen es responsable de efectos fenotípicos o caracteres distintos y no relacionados.

Polimorfismo: Son los múltiples alelos de un gen entre una población, normalmente expresados como diferentes fenotipos.

Preeclampsia: Estado patológico de la mujer en el embarazo que se caracteriza por hipertensión arterial, edemas, presencia de proteínas en la orina y aumento excesivo de peso; puede preceder a una eclampsia.

Prolapso del cordón umbilical: Salida del cordón por el canal del parto antes del feto.

Proteoma: Es la totalidad de proteínas expresadas en una célula particular bajo condiciones de medioambiente y etapa de desarrollo (o ciclo celular) específicas.

Prueba del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE): Principio que establece que la composición genética de una población permanece en equilibrio mientras no actúe la selección natural ni ningún otro factor y no se produzca ninguna mutación.

PSE: Exploración del estado actual (Present State Examination).

Psicoticismo: Dimensión sobre la vulnerabilidad a conductas impulsivas, agresivas o de baja empatía.

Puntuación LOD: Logaritmo de las probabilidades de que dos genes o loci se encuentren ligados y, por lo tanto, se heredan unidos con más frecuencia de lo habitual.

Ratones knockout (*KO*): Modificados genéticamente para que uno o más de sus genes estén inactivados mediante una técnica llamada gene knockout.

RDoC: Modelo de Criterios de Dominios de Investigación.

Receptores D: Receptores dopaminérgicos.

Receptores NMDA: Receptores de glutamato.

Serotonina: Neurotransmisor.

Síntomas negativos: Aquellos que nos indican un empobrecimiento de la personalidad del paciente principalmente en su estado anímico y en sus relaciones sociales.

Síntomas positivos: Rasgos que aparecen “nuevos” o “añadidos” en el individuo como resultado del trastorno y que normalmente no se observan en las personas sanas. Estos pueden ser las alucinaciones, delirios, pensamientos desorganizados o nerviosismo.

Sistema colinérgico: Sistema nervioso en el que la acetilcolina es el principal neurotransmisor.

SNP: Polimorfismos puntuales (single nucleotide polymorphism).

TEA: Trastornos del espectro autista.

TDT: Prueba de transmisión del desequilibrio (Transmission Disequilibrium Test).

TEP: Trastornos del espectro psicótico.

Test de Apgar: Examen clínico que se realiza al recién nacido después del parto, en donde el pediatra, neonatólogo, matron/a o enfermero/a certificado/a realiza una prueba en la que se valoran cinco parámetros para obtener una primera valoración simple (macroscópica), y clínica sobre el estado general del neonato después del parto.

Translocaciones: Desplazamiento de un segmento de un cromosoma a un nuevo lugar en el genoma.

Trisomías: Existencia de un cromosoma extra en un organismo diploide (número doble de cromosomas), es decir, en vez de un par homólogo de cromosomas es un triplete.

## A. INTRODUCCIÓN

---



## A. INTRODUCCIÓN

En el presente trabajo se abordará la posible relación entre las variantes del gen *NRXNI* y los trastornos del espectro psicótico. Para ello, iniciaremos el proyecto valorando en qué consiste la psicosis, la importancia y el alcance que llega a tener, a qué se debe esta forma de enfermar y qué papel tiene la genética. Posteriormente, indagaremos en la neurona, la sinapsis y las neurexinas (proteínas que expresa el gen *NRXNI*), y cómo están involucradas en el funcionamiento cerebral.

### A.1) Psicosis. Concepto

El término de psicosis se utiliza de forma genérica en psiquiatría y psicología para referirse a un estado mental descrito como una escisión o pérdida de contacto con la realidad. Las psicosis constituyen un trastorno cualitativo de la personalidad, global y, por lo general, grave. Su aparición implica, a menudo, una ruptura en la continuidad biográfica del paciente. Sin embargo, el concepto de psicosis no responde a una realidad homogénea. Con frecuencia se define por oposición al concepto de neurosis, que se caracteriza por tener conciencia de enfermedad y por reconocer sus síntomas. Por el contrario, se debe considerar que el enfermo con psicosis no tiene conciencia de su enfermedad y/o no efectúa una crítica de ella (Sadock, 2015). Según el *American Psychiatric Glossary* de la American Psychiatric Association (APA), el término psicótico implica, a grandes rasgos, un deterioro del sentido de la realidad. Las personas con un deterioro importante del sentido de la realidad valoran incorrectamente la exactitud de sus percepciones e ideas, y hacen inferencias incorrectas sobre la realidad externa, incluso frente a evidencias contrarias. Por lo tanto, el término psicótico no se aplica a distorsiones menores de la realidad que conciernen a asuntos de juicio relativo. Otro uso del término psicosis, basado en conceptos psicoanalíticos, especifica el grado de regresión del yo como criterio de enfermedad psicótica. Como consecuencia de estos significados múltiples, el término ha perdido su precisión en la práctica clínica y en la investigación actual (Johns, 2001).

Para definir el diagnóstico de psicosis, es necesario analizar múltiples parámetros del examen psicopatológico (conciencia, psicomotricidad, afecto, atención, concentración y memoria, inteligencia, curso del pensamiento, sensopercepción), como así mismo, la evolución y formas del curso del cuadro clínico. Dentro de los síntomas

característicos de las psicosis, se implican una amplia gama de disfunciones cognitivas y emocionales incluidas la percepción, el pensamiento inferencial, el lenguaje y la comunicación, la organización comportamental, la afectividad, la fluidez y productividad del pensamiento y del habla, la capacidad hedónica, la voluntad y la motivación y la atención (American Psychiatric Association, 2014).

Por otro lado, la ausencia de marcadores biológicos o procesos psicológicos distintivos para el diagnóstico de las psicosis funcionales ha dado lugar a problemas para la definición de estas alteraciones clínicas, basándose la decisión diagnóstica, en la mayoría de los casos, en los signos y síntomas manifiestos. Todo ello ha dado como resultado un desacuerdo, cuya sintomatología resulta fronteriza y no ajusta a los criterios especificados para cada trastorno (Lemos, 1995).

## **A.2) Psicosis. Diagnóstico**

### **A.2.a) Evolución del diagnóstico de Psicosis**

Desde sus inicios y a medida que transcurren los años, las clasificaciones psiquiátricas han ido evolucionado en las definiciones de los cuadros psicóticos tanto en los nombres que se le han dado como en los síntomas asociados.

#### **A.2.a.I) Kraepelin y la demencia precoz**

Al examinar los aspectos del cuadro clínico de la fenomenología psicótica y los interrogantes sobre la identificación y definición de los trastornos mentales, Kraepelin (1919) denominó como "demencia precoz" a la presencia de delirios y vacío afectivo en una temprana edad, lo que llevaba a deterioro (Falkai, 2015). Diferenció la esquizofrenia de las "psicosis orgánicas", llamando a la demencia precoz como "psicosis funcional". Dentro de las psicosis funcionales distinguió demencia precoz de la psicosis maníaco depresiva, la cual presentaba un curso intermitente y síntomas afectivos claros. Hizo una descripción de los síntomas de la esquizofrenia, donde se incluía:

- a. Alteraciones del pensamiento: incoherencia, pérdida asociativa, creencias delirantes.
- b. Alteraciones de la atención: distraibilidad por estímulos irrelevantes.
- c. Alteraciones emocionales: deterioro de la expresión emocional, embotamiento.

- d. Negativismo: reducción de la actividad voluntaria, descuido de la responsabilidad.
- e. Conductas estereotipadas.
- f. Presencia de alucinaciones.

La constatación de heterogeneidad de los pacientes llevó a Kraepelin a distinguir algunos subtipos dependiendo de los síntomas presentes: 1) Paranoide, 2) Catatónica, 3) Emocional y 4) Hebefrénica. Estos planteamientos fueron refutados, considerando que no siempre había un deterioro progresivo ni su comienzo era siempre precoz. Además, los subtipos eran mutuamente excluyentes, por lo que el diagnóstico se veía como poco fiable y sólo descriptivo. Kraepelin evolucionó en sus conceptos, reconociendo que un 13% no degeneraba y que su comienzo no era precoz en todos los casos, pero nunca dejó de sostener que correspondía a una disfunción cerebral (Belloch, 2008).

#### **A.2.a.II) Bleuler y el grupo de las Esquizofrenias**

Eugen Bleuler (1857-1939) cambió la denominación de demencia precoz a la de "esquizofrenia". Él consideró más importante el estudio transversal de los síntomas, que su curso y desenlace. Recalcó que lo unificador de esta anormalidad era la "*división o fragmentación del proceso del pensamiento*" o "Squizo-frenia". El resto de los síntomas eran de la misma importancia: aplanamiento afectivo, pensamiento distorsionado, abulia, ambivalencia. A estos síntomas los denominó "síntomas fundamentales", mientras que a los delirios y alucinaciones los consideró "accesorios", ya que también podían aparecer en trastornos como la psicosis maníaco-depresiva. Además, Bleuler consideró que la esquizofrenia era un grupo heterogéneo de trastornos, lo que junto a la aparición progresiva de nuevos trastornos psiquiátricos que ampliaron las fronteras de la esquizofrenia, llevó a la APA (Asociación Americana de Psiquiatría) a formular el DSM-I (American Psychiatric Association, 1952), que facilitó la comunicación entre psiquiatras y dio consistencia a los diagnósticos (Belloch, 2008; Sadock, 2015).

#### **A.2.a.III) La influencia de la investigación**

Las críticas procedentes de la psiquiatría británica hacia la pobre fiabilidad de los diagnósticos psiquiátricos durante las décadas pasadas, la variabilidad de los mismos y el creciente interés por determinar la naturaleza, severidad y pronóstico de la esquizofrenia, condujeron al desarrollo de programas conjuntos de investigación entre

distintos países. Se pusieron de manifiesto las grandes diferencias de diagnóstico entre los países (Kretschmer, 1921; Langfeldt, 1939; Lombroso, 1876; Schneider, 1971;), debido a diferencias teóricas y de concepto que sustentaban los diferentes sistemas diagnósticos. Se crearon instrumentos de diagnóstico estandarizados como el PSE (Present State Examination), que permitieron disponer internacionalmente de una descripción estandarizada de síntomas y definiciones de trastornos (PSE, 1975).

Los síntomas bleuerianos no siempre se ajustaban a los requerimientos de las entrevistas estructuradas, por lo que el psiquiatra alemán Kurt Schneider diferenció entre los denominados "síntomas de primer rango" y los "síntomas de segundo rango", cuya presencia conjunta asegura el diagnóstico de la esquizofrenia (Schneider, 1975).

1. Síntomas de primer rango:

- Pensamiento sonoro.
- Voces que discuten.
- Experiencia de pasividad somática.
- Influencia, imposición y robo del pensamiento.
- Transmisión de pensamiento.
- Percepciones delirantes.
- Cualquier experiencia que implique voluntad, afectos e impulsos dirigidos.

2. Síntomas de segundo rango:

- Otros trastornos de la percepción.
- Ideas delirantes súbitas.
- Perplejidad.
- Cambios depresivos o eufóricos.
- Sentimientos de empobrecimiento emocional.

#### **A.2.a.IV) Los sistemas diagnósticos oficiales**

Los sistemas diagnósticos internacionales más importantes son la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE), auspiciada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), y el Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM), promovido por la APA.

La CIE se inició en 1855 y estaba orientada hacia la nomenclatura de las causas de la muerte (World Health Organization, 1938). En 1948 fue cuando se editó la sexta revisión y es cuando se produjo el cambio en la clasificación de los trastornos mentales (World Health Organization, 1948). La octava edición fue la más aceptada (World Health Organization, 1967), hasta la fecha, por numerosos psiquiatras, y la novena ha sido reconocida internacionalmente, teniendo en cuenta que en América se hizo una versión distinta (CIE-9-MC o modificación clínica).

En Estados Unidos el Servicio de Salud Pública organizó en 1951 un grupo de trabajo con representación de la APA, para desarrollar una alternativa a la sección de los trastornos mentales de la CIE-6. El resultado de este documento fue la primera edición del DSM-I (American Psychiatric Association, 1952) publicado en 1952. La APA en 1968 publicó el DSM-II (American Psychiatric Association, 1968), basado en la clasificación de la CIE-8. A estas versiones les siguieron el DSM-III (1980) y el DSM-III-R (1987) (American Psychiatric Association, 1980; American Psychiatric Association, 1987). Los criterios del DSM-III-R ofrecieron, en su momento, los sistemas más utilizados para el diagnóstico y clasificación del espectro de la esquizofrenia, en toda la comunidad internacional. Tanto clínicos como investigadores alcanzaron un nivel aceptable de la fiabilidad en el diagnóstico clínico. Se estrechó el concepto de esquizofrenia, pues el criterio americano presente hasta los años '70 era más amplio que el europeo. Con este estrechamiento eliminó formas no psicóticas de esquizofrenia, por ello, manifestaciones psicopatológicas como la ambivalencia, el autismo y el embotamiento afectivo fueron desestimados, además se consideró que los trastornos afectivos pueden presentar características psicóticas, lo que requiere el diagnóstico diferencial que favorezca una intervención terapéutica adecuada (Kendler, 1989). Posteriormente, en la preparación del DSM-IV (1994) (American Psychiatric Association, 1994), se realizó un esfuerzo importante para que este sistema diagnóstico pudiera usarse en poblaciones de distinto ámbito cultural (tanto dentro como fuera de Estados Unidos). Por ejemplo, ciertas prácticas religiosas o creencias (como escuchar o ver a un familiar fallecido durante el duelo) podrían diagnosticarse en esta versión como manifestaciones de un trastorno psicótico (Castillo, 1997). En el año 2002, se publicó una nueva revisión, el DSM-IV-R (American Psychiatric Association, 2002).

## **A.2.b) Diagnóstico diferencial de los Trastornos Psicóticos**

### **A.2.b.I) Según examen psicopatológico**

Al valorar el estado psicopatológico, los cuadros psicóticos se pueden diferenciar en aquellos que presentan un compromiso de la conciencia o no. Entre los cuadros que afectan a la conciencia, corresponderían los trastornos físico-orgánicos tales como, el delirium, intoxicaciones o abstinencia de sustancia químicas y epilepsia. Los cuadros psicóticos que se presentan sin compromiso de conciencia se diferencian en aquellos que presentan un foco causal explicativo, psicosis reactiva, y los que no lo presentan, trastornos del afecto. Los últimos, por su parte, se encuentran divididos según el estado de ánimo, exaltado o deprimido y sin alteración o aplanamiento afectivo. Al primer subtipo, corresponderían los trastornos del ánimo, depresión y manía, y al segundo los trastornos, que en relación a la sensopercepción, la forma de presentación y curso, pueden diferenciarse en trastornos delirantes (que tienen un curso crónico, progresivo y sin alteración de la sensopercepción) y los trastornos esquizofreniforme y esquizofrenia (que cuentan con algún episodio con alteración de la sensopercepción) (Organización Mundial de la Salud, 1992).

### **A.2.b.II) Según su curso**

Los trastornos psicóticos cuya duración supera el día, pero es menor a un mes, se denominan trastornos psicóticos breves. Ahora bien, si la alteración se prolonga de uno a seis meses, se hablaría de trastorno esquizofreniforme. Por último, si la duración de éste supera los seis meses, se trataría ya sea de esquizofrenia, trastorno bipolar o trastorno delirantes (Organización Mundial de la Salud, 1992).

## **A.2.c) Criterios diagnósticos de los Trastornos Psicóticos**

### **A.2.c.I) Sistema de clasificación DSM-V**

El DSM-V (American Psychiatric Association, 2014) es la versión más actualizada. En el mismo, los tipos de esquizofrenia presentes en el DSM-IV (paranoide, desorganizado, catatónico, indiferenciado, residual), fueron eliminados debido a que presentan una limitada estabilidad diagnóstica, baja fiabilidad y pobre validez. De modo que el manual proporciona una escala de estimación de la gravedad de las dimensiones de síntomas centrales de la esquizofrenia, para así poder capturar la

variabilidad en los tipos de síntomas y en la gravedad expresada en los individuos con trastornos psicóticos (Ruhrmann, 2010; Sandín, 2013).

El espectro de la esquizofrenia y los otros trastornos psicóticos (esquizofreniforme, psicótico breve, esquizoafectivo, de delirios, esquizotípico de la personalidad, catatónia, trastorno del espectro de la esquizofrenia y otras psicosis), son definidos como anormalidades en uno o más de las cinco dimensiones básicas: (delirios [ideas delirantes], alucinaciones, pensamiento desorganizado [discurso], comportamiento motor gravemente desorganizado o anormal [incluida la catatonia], y síntomas negativos) y tres dimensiones complementarias (deterioro cognitivo, depresión, y manía) (American Psychiatric Association, 2014).

### **A.2.c.II) Sistema de clasificación CIE-10**

La Organización mundial de la Salud, en su Clasificación Internacional de Enfermedades, la CIE-10, distingue treinta cuadros pertenecientes a la psicosis (Organización Mundial de la Salud, 1992). Es el sistema de clasificación internacional de enfermedades mentales alternativo al DSM-V y el más imperante en Europa y España.

### **A.3) Epidemiología de la Esquizofrenia**

Nos enfocaremos principalmente en la esquizofrenia, por ser el tipo de psicosis más deteriorante y permanente, además de, y con importante diferencia, la más estudiada y de la que más datos se posee (Rossler, 2005; van Os J, 2001). La prevalencia de la esquizofrenia a lo largo de la vida es variable, pero los resultados de la mayor parte de los estudios establecen globalmente un promedio de una tasa de ligeramente inferior a 1 caso por cada 100 habitantes (Health Council of The Netherlands, 1999; McGrath, 2008). El trastorno parece tener una distribución uniforme en todo el mundo, aunque pueden existir algunas bolsas de prevalencia elevada o baja (APA, 1997).

#### **A.3.a) Incidencia de la Esquizofrenia**

El estudio multicéntrico internacional realizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para determinar los ratios de incidencia en ocho lugares de siete países y la publicación del informe preliminar, mostró una incidencia de la esquizofrenia con

un rango de entre 7 y 14 por 100.000. Los autores concluyeron que los resultados apoyaban la noción de que la esquizofrenia ocurría con frecuencia comparable en diferentes poblaciones (Jablensky, 1992; Sartorius, 1986).

Sin embargo, una revisión de 158 estudios realizados entre 1965 y 2001 y llevados a cabo en 32 países permitió establecer una media de incidencia anual de 15,2 por 100.000, con cifras más elevadas en los países desarrollados con un rango de entre 7,7 y 43,0 por 100.000. Dos revisiones sistemáticas independientes mostraban diferencias de incidencia según el género del paciente, con tasas significativamente más altas en varones (razón varón-mujer de 1,42/1,00). También aparecieron incidencias más altas en zonas urbanas frente a rurales, estatus migratorio y mes de nacimiento, con predominio en los meses de invierno (McGrath, 2005; McGrath, 2006).

Otros estudios posteriores muestran cierta heterogeneidad en las razones de incidencia de la esquizofrenia y de otros síndromes psicóticos a partir del estudio AESOP llevado a cabo en tres centros del Reino Unido con una población de 1.600.000 habitantes (Kirkbride, 2006). La esquizofrenia presentaba mayor incidencia en varones (2,3/1,0); los trastornos psicóticos eran más frecuentes en los grupos étnicos negros y minoritarios, y se registraron, asimismo, diferencias en la edad de los participantes y en el lugar del estudio. Los autores concluyen que existen variaciones independientes y significativas de la esquizofrenia y otras psicosis en términos de género, edad, grupo étnico y lugar.

En cuanto a la incidencia, el estudio “Primeros episodios de esquizofrenia en Cantabria” reveló que existía una incidencia de esquizofrenia para la edad de riesgo 15-54 años de 1,9/10.000 habitantes por año, y que no había diferencias estadísticamente significativas entre los sexos (Vazquez-Barquero, 1995). La edad media de la primera aparición de la enfermedad es a los 26 años, y es significativamente más alta en las mujeres que en los hombres.

### **A.3.b) Prevalencia de la Esquizofrenia**

En una revisión de 188 estudios publicados entre 1965 y 2002 sobre la prevalencia de la esquizofrenia en 46 países, si bien aparecen variaciones sustanciales entre distintos lugares, la prevalencia muestra generalmente valores comprendidos entre 4 y 7/1.000, dependiendo del tipo de estimación empleado. En la misma revisión, la



prevalencia se mostró mayor en poblaciones emigrantes (Saha, Chant, Welham, & McGrath, 2005).

### **A.3.c) Datos epidemiológicos de los Primeros Episodios Psicóticos**

Un estudio realizado en el ámbito rural irlandés sobre la epidemiología de los primeros episodios psicóticos entre 1995 y 2003, centrado en la incidencia de la esquizofrenia, el trastorno bipolar, la manía y el trastorno depresivo mayor con síntomas psicóticos, dio como resultado una incidencia anual de todas las formas de psicosis de 31,6/100.000 habitantes por año, con razones superiores en varones. Para la esquizofrenia, la incidencia fue de 7,0; para los trastornos esquizoafectivos, 2,0; y para el trastorno esquizofreniforme, 1,8. Las psicosis afectivas registraron una incidencia de 11,6/100.000 habitantes por año, y para el trastorno psicótico breve, el trastorno delirante y otros trastornos psicóticos, una incidencia de 9,3/100.000 habitantes por año (Baldwin, 2005).

## **A.4) Impacto socio-económico de la Esquizofrenia**

### **A.4.a) Coste económico**

Dado que la esquizofrenia suele aparecer en una fase temprana de la vida y, a menudo, puede ser de carácter crónico, los costes que provoca el trastorno son considerables. En EE.UU., según la revisión de estudios llevada a cabo por la APA, la esquizofrenia fue la causa de un 2,5% del total de gastos directos de asistencia sanitaria; es decir, de unos 16.000-19.000 millones de dólares en 1990. Los costes indirectos motivados por factores como la pérdida de productividad y la carga familiar se estimaron en unos 46.000 millones de dólares. Además, las tasas de desempleo pueden alcanzar un 70-80% en los casos graves y se calcula que los pacientes esquizofrénicos constituyen un 10% de los que están en invalidez permanente (APA, 1997).

En el año 2006 se presenta un trabajo sobre el coste de la esquizofrenia en España (Oliva-Moreno, 2006). En este artículo se estiman los costes de la esquizofrenia en España, calculando los costes directos (sanitarios, no sanitarios) e indirectos (incapacidad laboral, mortalidad prematura). Para el cálculo de los costes se utiliza el enfoque de la prevalencia, y se emplean los datos del año 2002 para llevarlo a cabo. En

el trabajo se estima que la esquizofrenia origina un coste anual en nuestro país de 1970 millones de euros, de los cuales 926 millones se deben a los costes directos no sanitarios, cuidados informales, y 1044 millones a los costes directos sanitarios, lo que implica que los costes directos no sanitarios representan el 47% del total de los costes directos originados por la esquizofrenia en España a lo largo de un año.

El impacto que tiene en España la esquizofrenia sobre el gasto sanitario público es elevado, representando el 2,7 % del mismo (Oliva-Moreno, 2006), dato en línea con las estimaciones de otros países occidentales (Knapp, 2004; Mangalore, 2007; Salize, 2009). Así, la esquizofrenia suele representar entre el 1,6 y el 2,6% del gasto sanitario total de los países occidentales, tal como se recoge en una revisión de los estudios de costes de la esquizofrenia realizada en 2004 (Knapp, 2004). En este trabajo se puede apreciar que las estimaciones realizadas por Oliva en 2006 están en la línea de lo publicado en otros países europeos, tanto en el importe como en la distribución porcentual de los distintos tipos de costes.

#### **A.4.b) Coste social**

La esquizofrenia tiene un gran impacto negativo sobre la funcionalidad y la calidad de vida de los pacientes. De hecho, el informe de 2005 de la Organización Mundial de la Salud atribuía el 31,7% de todos los años vividos con discapacidad a los trastornos neuropsiquiátricos, de los cuales la esquizofrenia ocupa el tercer lugar (2,8%), por detrás de la depresión unipolar (11,8%) y del trastorno por consumo de alcohol (3,3%) (Mathers & Loncar, 2006).

Si bien tras el primer episodio y, ocasionalmente, tras los segundos o terceros episodios, puede haber una remisión completa de los síntomas, la norma es que con el tiempo aparezcan síntomas residuales y un cierto grado de discapacidad interepisodios (Robinson, 1999). Estudios recientes estiman que, en aproximadamente un 20% de los pacientes, los síntomas son resistentes y la discapacidad aumenta progresivamente, y que en un 35% se da un patrón mixto con exacerbaciones y períodos de relativa estabilización (Chien, Chan, & Morrissey, 2007). En general, el funcionamiento cognitivo y ocupacional tiende a disminuir en los primeros años de la enfermedad hasta estabilizarse en un nivel significativamente inferior a lo que cabría esperar en función de la edad, el sexo y el nivel sociocultural (Disease Control Priorities Project, 2006).

Se estima que entre el 50 y el 80% de las personas con esquizofrenia vive o mantiene relaciones regulares con su familia de origen, y depende de ellos tanto económica como emocionalmente, así como para los aspectos básicos de la vida, como el alojamiento, la alimentación, los cuidados, etc (Lehman, 2004). Algunos autores han llegado a considerar a las familias como una extensión del sistema de salud mental en la provisión de cuidados a estos pacientes. Hanson y Rapp (Hanson & Rapp, 1992) señalan que a menudo la familia es la primera y última fuente de cuidados, especialmente en situaciones de crisis y emergencia. En este sentido, la World Federation of Mental Health (2010) recientemente ha reconocido la importancia del papel de los cuidadores en el cuidado de las personas con esquizofrenia y prevé una expansión de dicho papel dadas las limitaciones actuales de los recursos del sistema sanitario y social (Chan, 2011).

En España, la dependencia de la familia de origen es aún mayor según los resultados del estudio Abordaje Clínico de la Esquizofrenia (ACE). Este estudio encontró que el 90% de los pacientes vivía con su familia y que el 73% no mantenía ningún tipo de actividad laboral o de formación (Baldomero, 2006).

### **A.5) Etiopatogenia**

Es difícil encontrar en la literatura relacionada con la historia de la psiquiatría los inicios de la esquizofrenia como una enfermedad. La nomenclatura y descripción empleadas, solo nos permiten encontrar síntomas que en la actualidad podrían corresponderse a esta enfermedad. En las épocas más tempranas de nuestra civilización hasta hace varios siglos, las enfermedades graves eran los procesos atribuidos a la influencia de demonios malévolos. Estas enfermedades debían atajarse mediante conjuros, danzas, efectos mágicos, hechizos, talismanes y otras medidas. Si al final el demonio entraba dentro del cuerpo todos los esfuerzos se centraban en convertir en inhabitable el cuerpo al demonio con apaleamientos, torturas o haciendo morir de hambre al paciente. El espíritu ajeno se podía echar con pociones que provocaban un vómito violento o se expulsaba a través de un agujero realizado en el cráneo (Ellard, 1987).

Durante siglos, la sociedad hizo pagar a los enfermos mentales un precio muy alto por su mal. Su extraño comportamiento ha provocado la cruel hostilidad de la

ignorancia. En los primeros tiempos del cristianismo se creía que estaban poseídos por el demonio, y se les abandonaba a su suerte, aunque los monasterios daban albergue a algunos. La Edad Media heredó de los griegos y romanos la creencia de que los enfermos mentales estaban poseídos por los demonios, pero los antiguos los trataban con bondad y ceremonias religiosas. Con la caída del Imperio Romano la ruina de las instituciones sociales, no se tuvo ningún cuidado de los locos, que con frecuencia tenían que esconderse en los bosques. Los monasterios eran su único refugio, y la oración su principal tratamiento curativo, y en esta época de fe vigorosa, el exorcismo y la curación por la fe solían ser los métodos terapéuticos empleados. Pero el siglo XV, la fe, acosada, tomó una posición más defensiva. Las guerras, el caos y la peste negra provocaron epidemias de locura (danzas, delirios colectivos) que, a su vez, llevaron a cacerías de brujas en masa. La Inquisición sostenía que locos y locas eran brujos peligrosos, por lo que se les torturaba y se les quemaba vivos. Si la tortura no expulsaba al diablo, se recurriría al fuego (Jeste, 1985). Sin embargo, el 1 de junio de 1410 se inauguró el hospital con el nombre de Hospital d'Innocents, Folles i Orats, en Valencia (España), bajo el amparo de la Virgen Sancta María dels Innocents, con el objeto de recoger a los pobres dementes y expósitos, y fue aprobada por el papa Benedicto XIII y el rey Martín I de Aragón. Este fue el primer asilo mental que se instituyó en el mundo. Con esta fundación asistencial se empezó por primera vez en Europa a proporcionar a los enfermos mentales tratamiento médico hospitalizado y una residencia donde pudieran vivir acogidos (Lopez-Ibor, 2008).

En el Renacimiento, la autoridad secular sustituyó a la eclesiástica en muchos aspectos de la vida. Los monasterios dejaron el cuidado de los enfermos mentales a la sociedad, que se limitó a encarcelarlos. En 1547, el monasterio londinense de Santa María de Belén se convirtió en el hospital municipal llamado Bedlam (manicomio, en inglés). En él, como en casi todos los manicomios, se encadenaba a los locos entre los delincuentes, sin que eso inquietara a la sociedad. Los guardias golpeaban a los furiosos; a otros les aplicaban sangrías, vejatorios o purgas. En el siglo XIX, algunos médicos, aunque desconcertados por la enfermedad, se esforzaron por mejorar las condiciones de vida. El Dr Benjamín Rush, que hacia 1800 instituyó el primer curso de psiquiatría en los Estados Unidos, daba a los enfermos cuartos calientes y enfermeros humanos (Alexander, 1966).

En 1793, en un París que bullía con ideas revolucionarias, Phillippe Pinel fue nombrado médico de Bicêtre, infierno al que la ciudad arrojaba a los locos. Pinel tenía sus teorías revolucionarias, una de las cuales era librar a los enfermos de sus cadenas. Al ver justificadas sus teorías en Bicêtre, Pinel procedió a reformar la Salpêtrière, hospital de París para locas. Organizó ejercicios, conciertos, lecturas y visitas de los amigos. Pinel, el reformador más destacado de su época, no fue el único. Durante el mismo periodo, Vincenzo Chiarugi, en Italia, liberaba a los locos de sus cadenas, y en Inglaterra, el Asilo Cuáquero de York trataba con humanidad a los enfermos mentales (Adityanjee, 1999).

Sólo al inicio del siglo pasado, los avances médicos, tecnológicos y el descubrimiento del inconsciente abrieron la puerta para comprender estas dolencias y desarrollar hipótesis y modelos explicativos que intentan aclarar la etiopatogenia de la esquizofrenia (Ciompi, 1980). Es en 1899 cuando Kraepelin formulaba su concepto de enfermedad mental a la que denominó “demencia precoz”, empleó la expresión “trastorno básico”, no en sentido estricto, sino en sentido de “síntomas frecuentes característicos”; para Kraepelin la definición de esquizofrenia era concisa y restringida, con edad de inicio en la primera década o principios de la segunda (Andreasen, 1997). En 1911, Eugen Bleuler reconociendo el término de demencia precoz acuñado por Kraepelin, consideró que el rasgo más característico de este trastorno era la disgregación de las funciones y por lo tanto consideraba más apropiado denominarla “esquizofrenia” (Moskowitz, 2011). Posteriormente, en 1959, Kurt Schneider en su libro sobre psicopatología clínica, intenta superar la diversidad de conceptos definiendo a la esquizofrenia en términos puramente sintomatológicos, reconoce que la esquizofrenia es un trastorno de las asociaciones y sin discrepar abiertamente de Bleuler, considera que es difícil establecer un diagnóstico según sus criterios (Schneider, 1959). Finalmente, en 1980 apareció el DSM-III, cuyos criterios diagnósticos para la esquizofrenia representan la convergencia y el compromiso entre los de Kraepelin, Bleuler y Schneider y las ediciones posteriores (Westermeyer, 1984).

### **A.5.a) Factores de riesgo de la Esquizofrenia**

Según la mayoría de los modelos vigentes en la actualidad, la esquizofrenia se puede considerar como un grupo heterogéneo de síndromes de etiología desconocida, que difieren en sintomatología, curso y grado de deterioro final, y cuyo diagnóstico

descansa fundamentalmente en criterios clínicos (Bull, 1999). La gravedad de las consecuencias para quienes la padecen así como para su entorno hace que la investigación de su etiopatogenia, prevención, tratamiento y rehabilitación sea una prioridad en psiquiatría.

#### **A.5.a.I) ¿Qué es la cadena causal?**

La cadena causal, en el caso de la esquizofrenia, implica la interacción de gran cantidad de factores que pueden actuar en diferentes momentos de la vida y cuya acción supone que, a partir de cierto momento, la aparición del trastorno es inevitable. La combinación de factores que llevan hasta ese punto se denomina “causa suficiente”. El bloqueo de uno de los componentes o factores que constituyen la cadena suficiente impediría la aparición del efecto (Rothman, 1976).

El modelo causal se puede complicar debido a que un trastorno puede ser el resultado de causas suficientes diferentes y que dichas constelaciones pueden tener componentes o factores comunes. La relación entre los factores de una cadena suficiente puede ser diversa: los factores pueden ser independientes, unos pueden modificar el efecto de otros, se pueden dar relaciones de sinergia cuando el efecto final supera la suma de los efectos por separado, etc. La importancia de un factor en la aparición de un efecto se determina mediante la “fracción etiológica”, la cual no es un valor absoluto, más bien está condicionado por la prevalencia de los componentes complementarios en la misma causa suficiente. De esta forma, el incremento del riesgo relativo atribuible a un factor depende de la distribución de los restantes factores que forman la causa suficiente en la población estudiada (por ejemplo, hallazgos diferentes respecto a la influencia de un factor determinado en contextos diferentes) (Rothman, 1976).

Es importante establecer la diferencia entre los “factores predisponentes” y “factores precipitantes” en función de la proximidad hipotética entre su actuación y la aparición del efecto. Es difícil establecer el inicio del trastorno (inicio del efecto) en el caso de la esquizofrenia (Stewart, 2003). Existe la posibilidad de la “causalidad inversa”, en la que el factor que teóricamente antecede al efecto, está en realidad condicionado por situaciones que ya pueden corresponder a etapas prodrómicas o subclínicas del trastorno. Hay que añadir el problema asociado a la prolongada duración del “período latente” (desde que comienza la influencia de los factores causales hasta el

desencadenamiento del efecto), así como a la complejidad y plasticidad de los sistemas implicados. Quizás no se ha valorado adecuadamente la importancia del entorno infantil respecto a la determinación de respuestas a lo largo de todo el ciclo vital. Algunos autores consideran que al menos, parte de lo que ahora se considera resultado de factores genéticos, pueda descubrirse que es efecto del ambiente intrauterino o de la fase postnatal temprana, en la que se producen adaptaciones críticas sujeto-ambiente (Barker, 1989).

#### **A.5.a.II) Factores de riesgo en el embarazo, parto y puerperio**

La hipótesis del neurodesarrollo postula que parte de los esquizofrénicos parecen tener un trastorno resultado de una alteración producida durante el período de neurodesarrollo y el origen sería genético, ambiental o fruto de una combinación de ambos factores. Dicha lesión temprana interaccionaría con el proceso de maduración normal del cerebro (fundamentalmente áreas corticales relacionadas con la respuesta al estrés en el adulto), dando lugar a la aparición de síntomas tras un período silente en la adolescencia tardía y en adultos jóvenes (Navarro-Mateu, 1999).

A continuación (Tabla 1), se citan los factores de riesgo para la esquizofrenia en este período de la vida, de los que se tienen más datos acumulados y suponen un incremento significativo (de 2 a 5 veces), para desarrollar el trastorno que estudiamos:

**Tabla 1: Factores de riesgo para la esquizofrenia.**

<b>Complicaciones en el embarazo</b>	<b>Complicaciones del puerperio</b>
Infecciones víricas maternas	Puntuación baja en el test de Apgar
Malnutrición grave	Convulsiones neonatales
Preeclampsia	Signos neurológicos anormales
Hemorragias	Infecciones del sistema nervioso central
Incompatibilidad Rh	
Estrés materno grave	<b>Complicaciones del parto</b>
Retraso del desarrollo fetal	Parto prolongado
	Cesárea urgente
	Extracción instrumental
	Prolapso del cordón umbilical

*(Jones & Cannon, 1998; Cannon, Kendell, Susser, & Jones, 2003)*

### A.5.a.III) Otros factores de riesgo

En la siguiente tabla (Tabla 2) se enumeran otros factores de riesgo de los que se tienen más evidencia:

**Tabla 2: Factores de riesgo para la esquizofrenia.**

---

Fecha de nacimiento (finales invierno-comienzo primavera)
Lugar de nacimiento (medio urbano)
Inmigración
Anomalías en el desarrollo infantil
Problemas de lenguaje
Alteraciones morfológicas del sistema nervioso central
Consumo de cannabis
Acontecimientos vitales

---

*(Mortensen et al., 1999; Sundquist, Frank, & Sundquist, 2004; McGrath et al., 2004; Bhugra et al., 1997; Erlenmeyer-Kimling et al., 2000; Bearden et al., 2000; Andreasson, Allebeck, Engstrom, & Rydberg, 1987; van Os et al., 1994)*

---

### A.5.b) Neuroquímica de la Esquizofrenia

Hasta la fecha, el mecanismo neuroquímico subyacente a este trastorno permanece desconocido. La hipótesis neuroquímica más aceptada ha sido la que implica a la dopamina. La esquizofrenia y la dopamina han estado siempre unidas, desde que empezaron a conocerse los mecanismos de acción de los fármacos antipsicóticos y la capacidad psicotrópica de las sustancias psicoestimulantes (Keshavan, Tandon, Boutros, & Nasrallah, 2008). Éstas actúan aumentando la capacidad dopaminérgica, mientras que los primeros la reducen. Por lo tanto, la esquizofrenia se relacionó en una primera etapa con un estado de hiperdopaminergia. Sin embargo, la falta de especificidad de los fármacos antipsicóticos (actuaban sobre cualquier tipo de psicosis), la falta de eficacia en los síntomas negativos propios de la esquizofrenia, así como la falta de especificidad de los síntomas producidos por los estimulantes dopaminérgicos, junto con la ausencia en los estudios iniciales bioquímicos de alteración de los niveles de dopamina en los pacientes con esquizofrenia, llevaron a cuestionar la hipótesis dopaminérgica, y se relegó a las psicosis en general (Palomo, 2005). De manera más reciente, la hipótesis dopaminérgica se ha replanteado de forma que los síntomas de la



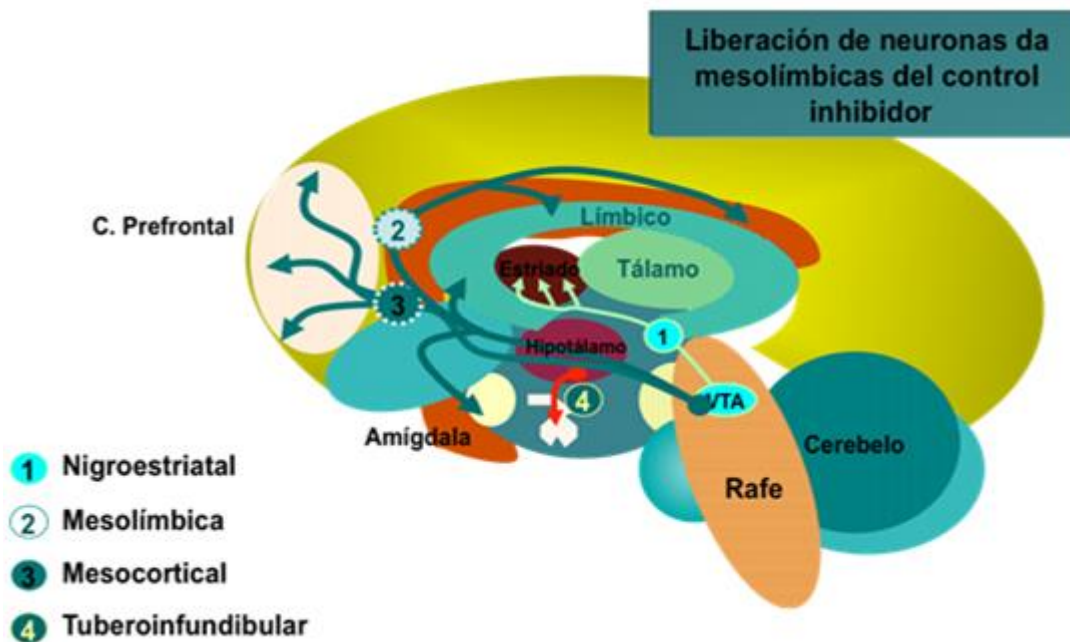
esquizofrenia son considerados como el resultado de la alteración de determinadas vías específicas (Howes, 2009). Sin embargo, la insuficiencia de la hipótesis dopaminérgica para explicar toda la fenomenología esquizofrénica, junto con los hallazgos en la implicación de otros sistemas de neurotransmisión, ha llevado al desarrollo de otras teorías neuroquímicas que intentan explicar la enfermedad. De modo que la hipótesis glutamatérgica, junto a la dopaminérgica, son consideradas actualmente como las más importantes y con mayor base empírica (Javitt, 2007).

#### A.5.b.I) Hipótesis Dopaminérgica

Esta hipótesis sostiene que los síntomas de la esquizofrenia se deben a un exceso de dopamina o a una elevada sensibilidad a este neurotransmisor (Matthyse, 1974). Se formuló tras el descubrimiento de que los antipsicóticos efectivos en la esquizofrenia eran antagonistas de los receptores dopaminérgicos (Carlsson & Lindqvist, 1963) y tras la observación de que los agentes liberadores de dopamina podían producir síntomas psicóticos (Lieberman, Kane, & Alvir, 1987; Rotrosen et al., 1979; Thompson, Pogue-Geile, & Grace, 2004). Las principales vías dopaminérgicas cerebrales que se han postulado son las siguientes:

- *Mesolímbica*: Proyecta desde el área tegmental ventral del mesencéfalo a ciertas áreas límbicas, como el núcleo accumbens, que forma parte del circuito de recompensa. Teóricamente la hiperactividad dopaminérgica de esta vía explicaría la producción de los síntomas positivos en las psicosis. Además, este circuito es importante para la regulación de las respuestas emocionales, la motivación, el placer y la recompensa, por lo que una disfunción a este nivel, podría explicar parte de los síntomas negativos observados en la esquizofrenia. En este caso, existiría un déficit en la función dopaminérgica. Quizás, la mayor incidencia de abuso de sustancias en la esquizofrenia, podría explicarse como un intento de potenciar la función deficitaria de este sistema de recompensa o centro del placer mesolímbico (Grace, 1991a; Grace, 1993). Por otro lado, la hiperactividad de las neuronas dopaminérgicas de esta vía puede desempeñar un papel en las conductas agresivas y hostiles de la esquizofrenia, sobre todo si se asocia a un control serotoninérgico errático.

- *Mesocortical*: Proyecta desde el área tegmental ventral a córtex prefrontal ventromedial y dorsolateral. Los haces que conectan con el córtex ventromedial, se han relacionado con funciones de regulación de emociones y afectividad, por lo que, un déficit dopaminérgico en esta vía podría explicar parte de los síntomas negativos y afectivos observados en la esquizofrenia. Por otro lado, los haces que proyectan al cortex dorsolateral se relacionan con la regulación de funciones cognitivas, por lo que algunos de los síntomas negativos y cognitivos de la esquizofrenia pueden ser debidos a un déficit de actividad dopaminérgica a este nivel (Croyley, Fujita, Innis, & Nathan, 2006).
  
- *Nigroestriada*: Proyecta desde la sustancia negra del troncoencéfalo a los ganglios basales o estriado. Esta vía forma parte del sistema extrapiramidal y desempeña un papel clave en el control de los movimientos motores. En la esquizofrenia no tratada, esta vía puede estar relativamente preservada. Sin embargo, las sustancias que bloquean los receptores de dopamina D2 en esta vía, reproducen trastornos de movimiento como la enfermedad de Parkinson (con temblor, rigidez y acinesia/bradicinesia), acatisia y distonía, provocados por la deficiencia de dopamina a este nivel. Cuando la dopamina está en exceso en esta vía, se producen movimientos hipercinéticos como corea, tics o discinesias. Un ejemplo sería la discinesia tardía inducida por neurolépticos que puede aparecer por el bloqueo crónico de estos receptores en esta vía nigroestriada.
  
- *Tuberoinfundibular*: Constituida por las neuronas que proyectan desde el hipotálamo a la hipófisis anterior, mediando en funciones neuroendocrinas. Regula la secreción de prolactina a la circulación sanguínea inhibiendo su liberación. Al recibir tratamiento con fármacos que bloquean los receptores dopaminérgicos D2 en esta vía se elevan los niveles de prolactina, pudiendo surgir efectos secundarios (galactorrea, amenorrea y disfunción sexual). En pacientes con esquizofrenia que no reciben tratamiento antipsicótico se considera normal el funcionamiento de esta vía.



**Figura 1: Vías dopaminérgicas.**

*Fuente: <http://edwinmunozt.blogspot.com.es/2014/07/esquizofrenia-y-modelo-medico.html>*

En la versión revisada de la hipótesis dopaminérgica, se propone que la esquizofrenia se asociaría a una disregulación en la transmisión dopaminérgica: por un lado se observaría una hiperfunción dopaminérgica subcortical en las proyecciones mesolímbicas, que resultaría en la hiperestimulación de los receptores D2 con aparición de sintomatología positiva. Por otro lado, una hipofunción en las proyecciones dopaminérgicas mesocorticales al córtex prefrontal, que resulta en la hipoestimulación de los receptores D1 con la consecuente sintomatología negativa, afectiva y cognitiva. Sin embargo, las vías dopaminérgicas nigroestriada y tuberoinfundibular permanecerían relativamente preservadas (Davis, Kahn, Ko, & Davidson, 1991; Laruelle, Kegeles, & Abi-Dargham, 2003).

Para poder explicar la complejidad de la esquizofrenia se han propuesto teorías basadas en la alteración del sistema dopaminérgico donde pueden tener cabida alteraciones en otros sistemas de neurotransmisión. En este contexto se desarrolló la teoría de la Constricción de los Límites de Tolerancia a la Dopamina, donde se plantea la coexistencia de situaciones de hiperdopaminergia e hipodopaminergia relativa por una alteración de la modulación de la actividad de este neurotransmisor (Ashcroft, Blackwood, Besson, Palomo, & Waring, 1981). Esta modulación dependería de otros neurotransmisores y de la interacción de los diferentes receptores dopaminérgicos,

existiendo mecanismos moduladores de compensación homeostática, que implican disminución o aumento de receptores dopaminérgicos en función de la concentración existente de dopamina en la hendidura sináptica. De este modo, cuando existe un exceso de concentración de dopamina en la hendidura sináptica, se produce una disminución de receptores y a la inversa. En condiciones normales, en respuesta a estímulos como el estrés, el disparo neuronal de dopamina se produce de manera fásica, inmediata, siendo ésta rápidamente reincorporada sin dar lugar a la mediación del mecanismo de homeostasis descrito. Sin embargo, en reposo la dopamina se libera de manera tónica a la hendidura sináptica, mantenida más tiempo, dando lugar a la activación de los mecanismos de compensación homeostática reguladores de la densidad de receptores. Esta liberación tónica de dopamina se mantendría gracias a la actividad de la corteza cerebral, que a través de proyecciones glutamatérgicas corticosubcorticales conseguiría un tono dopaminérgico adecuado (Grace, 1991b).

La disregulación dopaminérgica subcortical observada en la esquizofrenia podría ser secundaria al fracaso de la corteza prefrontal (Grace, 1991b; Lewis & Levitt, 2002; Weinberger & Lipska, 1995). Así, Carlsson describe un modelo en el que la corteza prefrontal modularía la actividad cerebral del cerebro medio mediante una vía activadora, constituida por proyecciones glutamatérgicas hacia las neuronas dopaminérgicas; y otra vía inhibitoria mediante proyecciones glutamatérgicas hacia las interneuronas gabaérgicas (Carlsson & Lindqvist, 1963). Según el modelo de Grace, en la esquizofrenia existiría una hipoglutamatergia corticosubcortical, con lo que la liberación tónica de dopamina estaría disminuida, disminuyendo su concentración en la hendidura sináptica. Consecuentemente a esta disminución, se activarían mecanismos homeostáticos de hipersensibilidad dopaminérgica, generando una hiperactivación dopaminérgica postsináptica en respuesta a una actividad dopaminérgica fásica (Grace, 1991b).

#### **A.5.b.II) Hipótesis Glutamatérgica**

Los mecanismos propuestos para explicar la mediación del glutamato en la esquizofrenia encuentran su fundamento en la neurotoxicidad inducida por este neurotransmisor y su interacción con la dopamina (Coyle, 2006). El glutamato es un neurotransmisor excitatorio capaz de actuar sobre cualquier neurona cerebral. Existen

cinco vías glutamatérgicas específicas, con relevancia en la fisiopatogenia de la esquizofrenia.

- *Vías córtico-troncoencefálicas*: Vía descendente que tiene un papel esencial en la regulación de liberación de neurotransmisores. Se proyecta desde las neuronas piramidales del córtex prefrontal a centros del troncoencefalo:
  - Núcleos del rafe: responsables de la neurotransmisión serotoninérgica.
  - Locus coeruleus: encargado de la neurotransmisión noradrenérgica.
  - Sustancia negra: con neurotransmisión dopaminérgica.
  - Área tegmental ventral: con neurotransmisión dopaminérgica. Actúa indirectamente en este área a través de interneuronas inhibitorias gabaérgicas, frenando de esta manera la vía dopaminérgica mesolímbica con una inhibición tónica de la liberación de dopamina.

Tras varias observaciones, se desarrolló una hipótesis en la que los receptores NMDA, específicamente en las proyecciones córtico-encefálicas, podrían ser hipoactivos en la esquizofrenia, resultando una hiperactividad dopaminérgica mesolímbica con aparición de sintomatología positiva (Javitt & Zukin, 1991; Javitt & Coyle, 2004; Pariente et al., 2004). Asimismo, se observó que cuando los receptores NMDA son hipofuncionantes debido a la acción del antagonista fenciclidina (PCP), además de los síntomas positivos descritos aparecían síntomas negativos, cognitivos y afectivos típicos de la esquizofrenia. Esto se debe a que las neuronas glutamatérgicas córtico-troncoencefálicas actúan como un acelerador de las neuronas dopaminérgicas mesocorticales, a diferencia de las neuronas glutamatérgicas córtico-troncoencefálicas sobre las neuronas dopaminérgicas mesolímbicas, donde actúan por medio de interneuronas gabaérgicas como antes se ha señalado. Es por ello, que la hipofunción del receptor NMDA en las proyecciones córtico-troncoencefálicas conllevaría una hipoactividad en la vía mesocortical dopaminérgica, explicando de esta manera la aparición de síntomas negativos, afectivos y cognitivos en la esquizofrenia (Coyle, Tsai, & Goff, 2003; Tsai & Coyle, 2002).

- *Vía córtico-estriada y córtico-accumbens y vías tálamocorticales*: Las dos primeras forman parte del brazo descendente del haz córtico-estriado-

tálamocortical (CSTC), mientras que las terceras constituyen el brazo ascendente de vuelta del mismo. Habitualmente las proyecciones glutamatérgicas descendentes finalizan sobre neuronas gabaérgicas en el estriado, que a su vez proyectan al tálamo creando un filtro sensorial.

La hipofunción del receptor NMDA en los haces CSTC provoca la reducción de la función inhibitoria del filtro talámico, lo que puede dar lugar a un exceso de información sensorial en el córtex, apareciendo de esta manera síntomas positivos de la esquizofrenia. Además de esto, cabe señalar el efecto de la hiperactividad dopaminérgica mesolímbica explicado con anterioridad, que en los haces CSTC reduce aún más la efectividad del filtro talámico, haciendo que demasiada información escape al córtex cerebral de manera difusa, contribuyendo de esta manera a la producción de alucinaciones y otros síntomas corticales como los negativos, afectivos y cognitivos.

- *Vías corticotalámicas:* Es una vía glutamatérgica que aporta entradas sensoriales al tálamo desde el córtex. Una hipofunción de los receptores de NMDA a este nivel provoca una disregulación de la información que llega al córtex debido a una sobrecarga y malfuncionamiento de las entradas glutamatérgicas corticales directamente desde el filtro talámico.
  
- *Vías corticocorticales:* Las neuronas piramidales se conectan entre sí mediante glutamato. Teniendo en cuenta la hipótesis de la esquizofrenia del receptor glutamatérgico hipofuncionante, existiría una comunicación corticocortical disfuncional caótica, pudiendo dar lugar a la aparición de síntomas de esquizofrenia.

Por último, hacer mención a la hipótesis excitotóxica de la esquizofrenia que propone la neurodegeneración como resultado de una excesiva neurotransmisión excitadora glutamatérgica, para explicar el curso en declive de esta enfermedad. Esta excitotoxicidad parece ser la vía final común de muchos trastornos neurodegenerativos neuropsiquiátricos. Se cree que la actividad glutamatérgica excitadora normal se altera, comenzando un proceso patológico de sobreexcitación que puede acompañarse de diversos síntomas, y que finalmente conlleva a la muerte neuronal. La excitación neuronal limitada mediada por los receptores NMDA de glutamato es necesaria para la

potenciación a largo plazo, formación de memoria y sinaptogénesis, siendo útil para llevar a cabo el podado dendrítico que trata de deshacerse de la materia cerebral muerta (Goff & Wine, 1997; Konradi & Heckers, 2003).

Con la información previa, podemos concluir que la hipofunción glutamatérgica podría servir de nexo entre distintos modelos etiopatogénico, como la teoría dopaminérgica, el neurodesarrollo; la plasticidad sináptica disfuncional y la hipótesis degenerativa.

#### **A.5.b.III) Hipótesis Serotoninérgica**

Las hipótesis que implican a la serotonina en la esquizofrenia, señalan su papel trófico en el neurodesarrollo, su interacción con el sistema dopaminérgico y los efectos de la serotonina en la corteza prefrontal a través de sus receptores 5HT<sub>2A</sub> (Kapur & Remington, 1996). En los últimos años se ha sugerido un aumento del tono serotoninérgico central en los pacientes con esquizofrenia (Abel, O'Keane, & Murray, 1996; Monteleone, Tortorella, Borriello, Cassandro, & Maj, 1999). Diversos autores han sugerido que la sintomatología negativa de la esquizofrenia reflejaría en parte, una hipofunción dopaminérgica en la corteza prefrontal, debida al efecto inhibitor que tendría la serotonina a ese nivel (Davis et al., 1991; Weinberger & Lipska, 1995). Es por ello, que los fármacos inhibidores de la función serotoninérgica desinhibirían la transmisión dopaminérgica en el córtex prefrontal, mejorando la clínica negativa (Kapur & Remington, 1996; Sepehry, Potvin, Elie, & Stip, 2007).

#### **A.5.b.IV) Sistema Colinérgico**

La administración de agonistas colinérgicos provoca un aumento de sintomatología negativa en los pacientes con esquizofrenia y una aparición de estos síntomas en los sanos (Peralta & Cuesta, 1995), sosteniendo algunos autores, que la hiperactividad colinérgica media en la sintomatología negativa de la esquizofrenia (Davis et al., 1991; Tandon & Greden, 1989).

#### **A.5.b.V) Sistema Gabaérgico**

Estudios *postmortem* de pacientes con esquizofrenia han encontrado niveles reducidos en el cortex prefrontal de la descarboxilasa del ácido glutámico, que es el

indicador de la síntesis de GABA (Lewis, Hashimoto, & Volk, 2005). Además, los receptores de GABA estarían regulados al alza como mecanismo compensador a los menores niveles de GABA (Jarskog, Miyamoto, & Lieberman, 2007).

#### **A.5.b.VI) Otros sistemas**

Además de los sistemas de neurotransmisión señalados anteriormente, la esquizofrenia se ha relacionado con el ácido gamma-aminobutírico (GABA), neuropéptidos, receptores adrenérgicos y mensajeros secundarios.

#### **A.5.c) Bases genéticas de la Esquizofrenia**

El interés por conocer el componente genético de la esquizofrenia ha crecido en paralelo al desarrollo de la genética como ciencia. Desde sus inicios, a comienzos del siglo XX, las investigaciones se centraron en determinar el papel que puede tener la herencia frente al ambiente en el desarrollo de la patología, utilizándose los métodos propios de la genética mendeliana y cuantitativa. Estas investigaciones, llevadas a cabo durante años posteriores, han dado lugar a resultados muy consistentes y que permiten afirmar con seguridad que la esquizofrenia tiene una base genética (Gottesman, 1991; Kendler & Diehl, 1995). Como vemos, este trastorno muestra una importante agregación familiar: el riesgo de padecerla en familiares de primer grado de un paciente, está incrementado en entre 5 y 10 veces respecto a la población general (Gottesman, 1991). En los estudios en gemelos, y dependiendo de los criterios diagnósticos utilizados, la concordancia para la esquizofrenia en gemelos monocigóticos varía entre el 15% y el 58%, y para dicigóticos entre el 4% y el 27% (Portin & Alanen, 1997a; Tsuang & Faraone, 1997). Los estudios de adopción (Tienari et al., 1987; Tienari et al., 2000) apoyan que este componente familiar se debe a una causa genética, y las revisiones de los datos disponibles estiman que el componente hereditario explican entorno al 65% de la variabilidad en la aparición de la enfermedad (Kendler & Diehl, 1995).

Por otro lado, la identificación de los genes implicados ha demostrado ser una tarea difícil. Además y a pesar de los esfuerzos realizados y la potente tecnología molecular aplicada en los últimos años, los resultados más significativos no han podido ser replicados en general. No existe, en estos momentos, evidencias concluyentes de



cuál es el gen o genes cuya alteración conduce al desarrollo de la esquizofrenia, pero empiezan a acumularse evidencias sobre la implicación de alguno de ellos.

Al hablar de genes y esquizofrenia, surgen los términos de “susceptibilidad” y “vulnerabilidad”. Por un lado se ha propuesto que un determinado acervo genético confiere una predisposición o susceptibilidad a padecer la esquizofrenia, por otro lado, hay autores que proponen que si bien los genes pueden afectar al desarrollo de la esquizofrenia, su peso es pequeño, y que estos actuarían más bien a nivel inespecífico, confiriendo una vulnerabilidad general a los trastornos psíquicos (Portin & Alanen, 1997a; van Os, Hanssen, Bijl, & Vollebergh, 2001). En el modelo propuesto por el Dr Sanjuán (Sanjuán, 2001), la susceptibilidad general a sufrir un trastorno emocional se suma una susceptibilidad específica a algunos de los síntomas característicos de la esquizofrenia (los relacionados con el lenguaje y el pensamiento). Una teoría más reciente, llamada de “inestabilidad del desarrollo” (Yeo, Gangestad, Edgar, & Thoma, 1999), mantiene que la esquizofrenia aparece cuando el individuo no es capaz de tamponar los efectos deletéreos de las mutaciones y los agentes ambientales durante el desarrollo, modelo basado en la clásica teoría de la canalización de C. H. Waddington (Waddington, 1942). Por último, se ha sugerido un modelo “ecogenético” según el cual lo que se heredaría sería una mayor predisposición a desarrollar conductas de riesgo (consumo de drogas, aislamiento social), las cuales serían los factores que desencadenarían la esquizofrenia como tal (van Os & Marcelis, 1998).

#### **A.5.c.I) Múltiples genes implicados**

Según la mayoría de los estudios genéticos realizados sobre la esquizofrenia, se puede concluir que se acepta que esta patología tiene una base poligénica o multifactorial, lo que implica la acción de un conjunto de genes en interacción con factores ambientales (Deshpande, 2016). Sin embargo, hay y ha habido autores que mantienen su naturaleza monogénica. Cabe destacar la curiosa propuesta de autores tan importantes en el desarrollo de la biología del siglo XX como I. Huxley y E. Mayr de que “la esquizofrenia, al menos en la gran mayoría de los casos, está basada en un solo gen parcialmente dominante con baja penetración», gen al que denominan Sc (Huxley, Mayr, Osmond, & Hoffer, 1964).

Estos autores se basan fundamentalmente en los trabajos de I. Book y E. Slater realizados a mediados de siglo. J. Book analizó la herencia de la esquizofrenia en una

población muy aislada del Círculo Polar Ártico, con un elevado grado de consanguinidad y alta incidencia de esta patología. Concluye que el tipo de esquizofrenia en la zona analizada se ajusta a un patrón monogénico, con herencia dominante y baja penetración. Curiosamente, el tipo de esquizofrenia de la población se aproxima a un patrón predominantemente catatónico. A similares resultados llega E. Slater tomando datos de otras poblaciones, pero bajo el supuesto de que el gen responsable se transmitiera según un modelo de herencia intermedia (Slater, 1947; Slater, 1958; Slater, 1969).

Actualmente el autor más representativo del carácter monogénico de la esquizofrenia es T. I. Crow. Aunque esta aproximación pueda parecer insostenible, que un síndrome tan complejo como la esquizofrenia pueda depender de la simple acción de un gen, tiene sentido, por ejemplo, en el contexto del neurodesarrollo. De hecho, numerosas evidencias demuestran que la variación en un solo gen puede afectar profundamente al desarrollo de un organismo, si bien la mayoría de ellas proceden de organismos mucho más sencillos, como insectos, nematodos, etc. En el contexto del neurodesarrollo este autor sostiene que “la genética de la psicosis es la genética de la asimetría cerebral” (Crow, 1999b). Los principales problemas de esta propuesta son, en primer lugar, que las asimetrías cerebrales no aparecen en todos los pacientes con esquizofrenia, y en segundo lugar que dichas asimetrías son una característica típica de otros pacientes, como los que sufren dislexia (Sanjuán, 2001).

Además de estos problemas, la teoría de T. I. Crow tiene su máxima debilidad en las aproximaciones genéticas que realiza. Este autor defiende que el gen responsable de la asimetría cerebral está en el cromosoma X, bien en la región pseudoautosómica o en la región de homología Xq21 (Crow, 1992; Crow, 1999a; Sargent et al., 2001), aunque se tienen pocas evidencias que lo apoyen. En 2002, este autor ha analizado la región homóloga entre Xq21 y el cromosoma Y (Nicholson, Yang, DeLisi, & Crow, 2002), centrándose especialmente en uno de los genes localizados en dicha región, la protocaderina-X (PCDH11X), con resultados negativos (Giouzei, Williams, Lonie, DeLisi, & Crow, 2004). Con los datos actuales, no se puede descartar que uno o unos pocos genes de efecto mayor puedan afectar directamente al desarrollo de la esquizofrenia o al menos alguno de sus rasgos o síntomas más característicos. Sin embargo, actualmente lo que en general se asume es que la vulnerabilidad genética a la

esquizofrenia tiene un origen multifactorial, es decir, se debe a la acción de múltiples genes en interacción con factores ambientales, lo que se entiende como enfermedades complejas.

#### **A.5.c.II) Genética de las enfermedades complejas**

Actualmente, el análisis genético de las enfermedades complejas es un tema que centra gran parte de la investigación en genética humana. Dentro de la categoría de enfermedades complejas se incluyen enfermedades de alta prevalencia en poblaciones humanas, como la hipertensión, la diabetes, la susceptibilidad a enfermedades cardíacas o la esquizofrenia. A pesar de los esfuerzos realizados estos últimos años en la búsqueda de las bases genéticas de estas enfermedades, sigue sin conocerse cuál es la arquitectura genética de los caracteres complejos (Frazer, Murray, Schork, & Topol, 2009; Shao et al., 2008). Se desconoce el número de genes implicados, el grado de efecto fenotípico de los alelos de riesgo y la interacción entre ellos (Frazer et al., 2009; Shao et al., 2008). La hipótesis más aceptada actualmente por la comunidad científica es la denominada CDCV (common disease/common variant), que asume que las variaciones en el ácido desoxirribonucleico (ADN) que están en el origen de la vulnerabilidad de las enfermedades complejas son alelos comunes, ampliamente difundidos en las poblaciones humanas y con un ligero efecto sobre el fenotipo. En este marco se han realizado los estudios de asociación genómica completa (genome wide association studies [GWAS]), centrado en el análisis genético de las enfermedades complejas y que trataremos más adelante en relación con la esquizofrenia. Sin embargo, los resultados de los GWAS en estos dos últimos años introducen serias dudas sobre la validez de la hipótesis CDCV, derivadas fundamentalmente de los bajos valores de odds ratio (OR) encontrados para las variantes comunes analizadas (Frazer et al., 2009). Por ello aparece cada vez más en la literatura científica la necesidad de centrar el análisis genético en alelos de alto riesgo (con un fuerte efecto fenotípico), poco frecuentes y específicos de cada población.

#### **A.5.c.III) El origen de la esquizofrenia**

Ante la elevada prevalencia y universalidad de la esquizofrenia, se plantea la interesante paradoja de cómo puede mantenerse en las poblaciones humanas cuando la eficacia biológica de los sujetos que la padecen es baja. Precisamente una de las

dificultades más importantes para aceptar el modelo monogénico es que no explica cómo puede mantenerse la ya comentada alta incidencia de esta patología en la población. Si la esquizofrenia depende de un solo gen, el alelo mutante que da origen a esta patología tendera a ser eliminado por selección, ya que los esquizofrénicos muestran una eficacia biológica menor (menor viabilidad y fertilidad) (Haukka, Suvisaari, & Lonnqvist, 2003; Nimgaonkar, 1998; Svensson, Lichtenstein, Sandin, & Hultman, 2007). Por ello, los autores que defienden la herencia monogénica tratan de aducir cualquier tipo de causa fisiológica o reproductiva que compense los efectos negativos de la esquizofrenia. No se ha demostrado, como proponían Huxley y cols (Huxley, 1964; Huxley, 1965), que estos pacientes tengan una mayor resistencia a las infecciones, como tampoco que la menor fertilidad de los pacientes con esquizofrenia esté compensada con una mayor fertilidad de los padres o hermanos de los afectados (Haukka et al., 2003; Svensson et al., 2007). Sin embargo, hay datos sugerentes de una menor frecuencia de apendicitis (Lauerma et al., 1998) y cáncer (Lichtermann, 2001; Tabares-Seisdedos, 2011) en los pacientes con esquizofrenia.

Aceptando la versión del origen multifactorial de la esquizofrenia, cómo puede mantenerse en las poblaciones humanas continúa siendo una cuestión abierta. En una amplia revisión sobre el tema (Keller & Miller, 2006) se agrupan las hipótesis propuestas en tres categorías: neutralidad ancestral, selección equilibradora y equilibrio entre mutación (poligénica)-selección. Algunos autores argumentan que sólo el equilibrio entre mutaciones que afectan a un número (reducido o amplio) de genes y la selección purificadora se corresponden con los datos de las enfermedades mentales sobre la tasa de prevalencia, eficacia biológica, edad de los padres, consanguinidad, etc. Sin embargo, el marco conceptual más aceptado en el campo de la psiquiatría evolutiva es el de la selección equilibradora. Dejando a un lado los adaptacionistas extremos de la psiquiatría darwiniana, para los que todas las novedades evolutivas son adaptativas (Dubrovsky, 2002; Nesse, 2002; Pearlson & Folley, 2008), algunas de las propuestas son totalmente congruentes con las bases teóricas de la genética evolutiva.

La selección equilibradora, como mecanismo para mantener la variabilidad genética en las poblaciones, propone que dos o más alelos pueden mantenerse en la población si las eficacias biológicas de cada uno de ellos (variables en función de las condiciones ambientales) pueden compensarse entre sí. Bajo este amplio mecanismo

evolutivo se han propuesto interesantes hipótesis que tratan de explicar la prevalencia de las enfermedades mentales en las poblaciones humanas. Entre ellas destacamos el modelo de la “susceptibilidad ancestral” y el de la “pleiotropía antagonista”. La hipótesis de la susceptibilidad ancestral propone que alelos ancestrales con una ventaja adaptativa en las condiciones y estilo de vida de las poblaciones humanas antiguas pueden haber cambiado para incrementar el factor de riesgo de enfermedades comunes en las poblaciones humanas modernas (Di & Hudson, 2005). En apoyo de esta hipótesis puede citarse como ejemplo el alelo 4 del gen que codifica la apolipoproteína E (APOE), que incrementa el riesgo de enfermedad coronaria y de enfermedad de Alzheimer, y distintos alelos de genes relacionados con la diabetes y la hipertensión (Di & Hudson, 2005). En el caso de las enfermedades mentales, se ha argumentado que los alelos de susceptibilidad en poblaciones humanas actuales no tendrían el mismo efecto fenotípico en el ambiente (físico o social) ancestral. En este sentido se ha especulado ampliamente sobre si individuos prehistóricos con esquizofrenia fueron aceptados socialmente como chamanes o visionarios religiosos (Keller & Miller, 2006). Dejando el terreno de la especulación, se han encontrado evidencias de que variantes génicas sometidas a selección positiva en el linaje humano se encuentran asociadas significativamente a la esquizofrenia, como es el caso de los genes FOXP2 y MAOB (Carrera, Sanjuan, Molto, Carracedo, & Costas, 2009; Sanjuan et al., 2005).

El término pleiotropía indica que un gen afecta a más de un carácter fenotípico, y pleiotropía antagonista se aplica cuando el efecto sobre los distintos caracteres fenotípicos tiene distinta eficacia biológica: mientras un carácter fenotípico puede estar favorecido por la selección, otro puede ser deletéreo. Dentro de este mecanismo evolutivo puede englobarse una de las hipótesis más sugerentes sobre el origen y mantenimiento de la esquizofrenia. Dado que la esquizofrenia se ha asociado al origen del hombre (por ser una enfermedad específicamente humana y de prevalencia universal) se ha propuesto que la esquizofrenia surgió en el proceso de especiación como subproducto de la adquisición de un carácter favorecido por la selección natural (Crespi, Summers, & Dorus, 2007; Dean, 2009; Pearlson & Folley, 2008; Vamathevan et al., 2008). La ventaja selectiva pudo residir en la adquisición de funciones tan importantes como la especialización del cerebro humano en funciones cognitivas elevadas (Crespi et al., 2007; Vamathevan et al., 2008), la inteligencia social (Burns, 2004; Burns, 2009), el desarrollo de un sistema nervioso central complejo (Dean, 2009)

o, como sugirió T. Crow años atrás, que la ventaja selectiva reside en la adquisición del lenguaje (Brune, 2004; Crow, 1995b; Crow, 1995c; Sanjuan, 1999). Según este autor, la esquizofrenia es el precio que el Homo sapiens tuvo que pagar por la adquisición del lenguaje (Crow, 2000b).

#### **A.5.d) Fenotipos alternativos y endofenotipos de la Esquizofrenia**

Uno de los factores que da lugar a los resultados negativos o contradictorios en la búsqueda de los genes implicados en la esquizofrenia es la dificultad en la definición del fenotipo esquizofrénico. Todo parece indicar que los fenotipos que son útiles en la clínica no son buenos fenotipos biológicos (Allen, 2009). El problema se observa, sobre todo, cuando se trata de investigar qué genes están implicados y no únicamente de dar datos generales sobre el grado de varianza explicada. Además, hay mucha distancia entre el polimorfismo de un gen (población de múltiples alelos de un gen) y el fenotipo (conjunto de caracteres visibles que un individuo presenta como resultado de la interacción entre su genotipo y el medio) que queremos estudiar. Hay poca capacidad predictiva del fenotipo desde el genotipo. Muchas de las aproximaciones de rastreo genético en los estudios de ligamiento no han tenido éxito y puede deberse a que dichas aproximaciones sólo son útiles cuando existen genes de efecto mayor, lo que sólo ocurre en algunos casos de fenotipos de muy baja prevalencia, que probablemente tienen muy poco que ver con la mayoría de los casos que denominamos esquizofrenia (Goldberg, 1995).

Todo esto ha llevado a los investigadores a replantearse la utilización de los llamados “fenotipos alternativos” o también “endofenotipos” en la investigación genética de la esquizofrenia. Hace ya más de 40 años, John y Lewis crearon el concepto de endofenotipo para describir características bioquímicas de los saltamontes que no eran obvias en el fenotipo externo, pero que podían estar estrechamente ligadas a variantes en el genotipo (John & Lewis, 1966). La utilización de este concepto en psiquiatría fue ya sugerida un año después por Gottesman y Shileds (Gottesman & Shields, 1967), argumentando que las clasificaciones nosológicas basadas en agrupaciones sintomáticas no eran apropiadas para las investigaciones genéticas. Aunque todo el mundo admite que los diagnósticos basados puramente en la agrupación de criterios tienen muy poca validez biológica, el concepto de endofenotipo no ha sido

recogido por los investigadores hasta hace pocos años (Benes, 2007; Braff, Freedman, Schork, & Gottesman, 2007; Gottesman & Shields, 1967; Gottesman & Gould, 2003;).

Hay que tener en cuenta que cualquier endofenotipo que queramos estudiar precisa primero de definir la muestra que vamos a investigar. Si esta muestra no es de población general, estará necesariamente definida de forma clínica. Es importante diferenciar los fenotipos alternativos (alternativas clínicas al síndrome de esquizofrenia) de los verdaderos endofenotipos (siempre definidos por pruebas diagnósticas no visibles clínicamente). A esto, añadir que ha habido dos grandes corrientes en la tendencia clasificadora de la esquizofrenia: los amantes de la agrupación y los buscadores de subclasificaciones. Dicho en otros términos: la tendencia a ampliar y la tendencia a recortar el fenotipo (Flint & Munafò, 2007). Ninguna de estas estrategias es a priori superior a la otra (Sanjuan, Aguilar, & de, 2006).

#### **A.5.d.I) Subtipos clínicos clásicos**

Surge la cuestión de investigar la validez biológica de algunos de los subtipos clínicos clásicos. La ventaja de la búsqueda de agrupaciones sindrómicas es que es el modelo más cercano a la clínica tradicional.

Una propuesta todavía interesante en este sentido sigue siendo la que realizó T. J. Crow hace ya casi 30 años, de síndromes tipo I y tipo II (Crow, 1980). Esta propuesta se basaba en una conjunción de datos clínicos, cognitivos, de neuroimagen y de respuesta a la medicación. Otras propuestas también basadas en dos tipos son la de esquizofrenia positiva y negativa (Andreasen & Carpenter, Jr., 1993) y la de paranoide frente a no paranoide (Kendler & Davis, 1981). Más adelante, nació la defensa de la existencia de tres síndromes (Peralta, de, & Cuesta, 1992). Sin embargo, los estudios genéticos que tratan de encontrar diferencias entre estos síndromes han dado resultados negativos. Tampoco ha resultado fructífera la utilización de los cuatro síndromes clásicos como hace el DSM-IV o la CIE-10, o las propuestas que incluyen 5 subgrupos o más (Kendler, McGuire, Gruenberg, & Walsh, 1994). El problema es que estas subclasificaciones siempre están supeditadas al método de medición clínico (escala) utilizado para realizar el diagnóstico y son un producto (en cierto modo artificial) de un análisis factorial que depende directamente de dicha escala.

Por otro lado y como señalan Goldberg y Weinberger, la varianza del fenotipo no tiene por qué explicarse en función de que se trate de muchos síndromes, sino que pudiera también considerarse un cuadro de etiopatogenia común con una expresión fenotípica variable y a la que se sumen fenocopias secundarias a otras etiologías (Goldberg & Weinberger, 1995). Además, hasta ahora los resultados genéticos abalan más el concepto de psicosis única que el de subclasificación sindrómica. Por ejemplo, diferentes estudios han encontrado una base genética común entre la esquizofrenia y el trastorno bipolar (Crow, 1995a).

#### **A.5.d.II) Ampliación del fenotipo a la personalidad esquizotípica-esquizotóxica**

Una de las cuestiones que sugirieron ya los clásicos E. Kraepelin y E. Bleuler en torno a la etiología de la esquizofrenia fue la observación de que había muchos casos que no llegaban a presentar el síndrome completo pero que mostraban síntomas o rasgos de la enfermedad. Detrás de esta observación está la idea de que todo el mundo tiene un núcleo psicótico que puede salir a la luz si se somete a situaciones de estrés o a tóxicos suficientemente potentes. La posibilidad de cuadros intermedios que no llegaran a presentar los síntomas clásicos de la esquizofrenia es lo que E. Bleuler denominó “esquizofrenias latentes”. Una de las posibles formas de definir estos cuadros intermedios es a través de los rasgos de personalidad que se relacionan más con la esquizofrenia: la personalidad esquizotípica y la esquizoide, siendo el tipo esquizotípico el más estudiado.

Valorando el campo de la genética de la personalidad, vemos que desde los trabajos pioneros de H. J. Eysenk, defendiendo una dimensión de psicoticismo (Eysenk, 1975), diversos autores han sostenido que el principal factor de riesgo de la esquizofrenia, en al menos alguna de sus formas, sería tener rasgos de personalidad predisponentes. Según este modelo, lo que heredaríamos sería una predisposición a dicha personalidad y no a la esquizofrenia en sí. El trastorno de personalidad más claramente relacionado con la esquizofrenia es el de la personalidad esquizotípica. En un estudio dedicado a este tema, Lezenweger y cols. (Lenzenweger & Dworkin, 1998) investigaron el riesgo de morbilidad de esquizofrenia, trastorno bipolar o depresión mayor en los familiares de primer grado de 101 pacientes no psicóticos. Clasificaron a dichos pacientes de acuerdo con el Cuestionario de Evaluación de la Personalidad



(Personality Assessment Schedule [PAS]) en esquizotípicos positivos y negativos. Los que fueron clasificados como esquizotípicos positivos tenían una prevalencia de esquizofrenia entre sus familiares del 3,75%, frente al 0,00 % de los familiares de esquizotípicos negativos.

Una variante de la esquizotipia que ha recobrado interés en estudios recientes es la esquizotaxia. El concepto de esquizotaxia fue formulado por P. E. Meehl en 1962 (Meehl, 1962) y reformulado en 1990 (Meehl, 1990), intentando crear un modelo unificado de la esquizofrenia, para lo que agrupó en dicho concepto una serie de características de personalidad que serían semejantes a la esquizotipia negativa (los síntomas de esquizotipia sin los síntomas positivos). Esta esquizotaxia sería el síndrome de vulnerabilidad previo tanto para la esquizofrenia como para el trastorno de personalidad esquizotípico. El grupo de M. Tsuang ha investigado la validez genética de dicho síndrome (Stone et al., 2001). Dichos autores entienden la esquizotaxia como una agrupación de déficits neuropsicológicos y de síntomas negativos. En un estudio preliminar (Tsuang, Stone, Tarbox, & Faraone, 2002) investigan a 27 sujetos familiares en primer grado de pacientes esquizofrénicos con una serie de escalas que miden la esquizotaxia, y encuentran que 9 sujetos cumplían los criterios para este diagnóstico. Estos sujetos muestran un déficit en diversas pruebas clínicas y neuropsicológicas. Para estos autores, esta es la primera evidencia de la validez de dicha construcción y también la sugerencia directa de que puede ser un buen marcador de vulnerabilidad de la esquizofrenia. El modelo propuesto por estos autores se engloba dentro de la hipótesis de “los dos-golpes” (two-hit) (Maynard, Sikich, Lieberman, & LaMantia, 2001). Según este modelo, se heredaría en primer lugar una predisposición a la esquizotaxia sobre la que actuarían influencias de aprendizaje social, condicionando la aparición de la esquizotipia. Acontecimientos vitales estresantes (segundo golpe) provocarían en estos sujetos la emergencia del cuadro esquizofrénico. El problema principal de estas aproximaciones, que es aplicable también a las que buscan subtipos clínicos, es que sigue habiendo mucha distancia entre el fenotipo y el genotipo. Una forma de intentar resolver esta cuestión es buscar fenotipos más elementales. Esto es lo que han intentado las investigaciones neurofisiológicas y de déficits cognitivos.

Actualmente, uno de los mayores defensores de esta aproximación dimensional para los estudios genéticos es J. van Os. Este autor ha realizado numerosos

estudios sobre la prevalencia de síntomas psicóticos en población general (van Os, 2001; van Os, 2009). Más recientemente ha postulado que algunos polimorfismos de riesgo pudieran interactuar con factores ambientales, como el consumo de cannabis, para explicar la aparición de procesos psicóticos (van Os, Rutten, & Poulton, 2008).

#### **A.5.d.III) Aproximación basada en el deterioro cognitivo**

La investigación psiquiátrica está basada en la psicopatología. La definición y delimitación de los síntomas psiquiátricos han ido variando a lo largo del tiempo muchas veces influidos más por cuestiones circunstanciales, políticas o históricas que por alcanzar una auténtica validez en la clínica. Esto quiere decir que el síntoma, elemento esencial de la clínica psiquiátrica, no está bien definido ni conocemos su validez.

En los últimos años ha habido un interés creciente por las alteraciones cognitivas en la esquizofrenia (Green, 2006; Sharma & Harvey, 2000). Por otro lado, se han producido importantes avances en lo que se ha denominado neurociencia cognitiva y en el estudio de sus bases genéticas. Goldberg y cols. (Goldberg et al., 1993) han señalado la existencia de un déficit de procesamiento en funciones como la memoria de trabajo y la rapidez de procesamiento en gemelos monocigóticos discordantes para la esquizofrenia. Cannon y cols. (Cannon et al., 2000) han encontrado también un déficit en la memoria de trabajo en gemelos monocigóticos y dicigóticos, ambos discordantes para la enfermedad, sugiriendo un componente hereditario de dicha función cognitiva. Otros estudios en familiares de pacientes esquizofrénicos han encontrado mayor frecuencia de diferentes déficits cognitivos (memoria de trabajo y tareas ejecutivas) comparados con la población general (Cannon et al., 1994; Egan et al., 2001a).

En esta línea de estudios, la investigación más importante, quizás sea la del grupo de D. R. Weinberger. Establecen una relación entre el polimorfismo de la COMT y la esquizofrenia basándose en diferentes razones: A) hay un locus cercano, 22q11, que ha aparecido repetidamente en los estudios de ligamiento; B) el polimorfismo afecta a una enzima que sirve para regular la función dopaminérgica a nivel prefrontal; C) hay abundantes datos sobre alteraciones prefrontales en la esquizofrenia, tanto desde la neuropsicología (Faraone et al., 2000) como desde la neuroimagen funcional (Weinberger et al., 2001); D) una serie de estudios de este grupo ha encontrado que los

familiares, incluyendo los gemelos monocigóticos, no afectados tienen también este tipo de déficit (Aguilar, Sanjuan, Garcia-Marti, Lull, & Robles, 2008).

Estos autores sostienen que una variante del gen de la COMT está relacionada con cambios en la actividad de esta enzima, lo que permite predecir un bajo rendimiento en funciones frontales. Polimorfismos en este genotipo pueden explicar un 4 % de la variabilidad en la función ejecutiva en sujetos normales. Sin embargo, metaanálisis más recientes sobre la relación entre COMT y esquizofrenia han arrojado resultados negativos (Okochi et al., 2009). Además, hay que recordar que no se ha encontrado hasta la fecha ningún déficit cognitivo específico que tenga utilidad diagnóstica en la práctica clínica. Nadie diagnostica la esquizofrenia basándose en el déficit cognitivo. Por tanto, los hallazgos relativos al déficit cognitivo son totalmente inespecíficos (Sanjuan et al., 2006).

#### **A.5.d.IV) Aproximación basada en alucinaciones auditivas**

Es cierto que dichas alucinaciones pueden aparecer en otros cuadros aparte de la esquizofrenia e incluso en la población general, las características fenomenológicas de las alucinaciones en estos pacientes las hacen únicas, al menos dentro, de la psicosis. Se ha realizado el primer estudio del gen *FOXP2* en pacientes esquizofrénicos (Sanjuan et al., 2006). La importancia de este gen es que ha sido la primera vez que se ha relacionado una mutación con una patología específica del lenguaje, siendo la alteración del lenguaje una característica central de la esquizofrenia. Se ha encontrado una relación con variaciones alélicas del gen *CCK-AR* y la persistencia de las alucinaciones auditivas (Thaker, 2008). También se ha comprobado que los sujetos con la variante corta del polimorfismo *5-HTTLPR* del gen *5-HTT* muestran un aumento de la respuesta emocional a las alucinaciones auditivas (Sanjuan et al., 2006). Este resultado resulta coherente con resultados anteriores que habían demostrado que la variante corta guarda relación con una mayor respuesta emocional al estrés.

#### **A.5.d.V) Endofenotipos**

Al centrarnos en aspectos puramente endofenotípicos (no observables desde la clínica), encontramos multitud de posibles endofenotipos: desde los que se basan en anomalías físicas menores hasta los que consideran las alteraciones de neuroimagen

estructural o funcional. Allen y cols. (Allen, Griss, Folley, Hawkins, & Pearlson, 2009) realizan una revisión exhaustiva de la literatura analizando la prevalencia de las anomalías de cada uno de estos posibles endofenotipos en tres grupos de sujetos: pacientes con esquizofrenia, familiares de pacientes con esquizofrenia y población general. Los endofenotipos que aparecen con mayor frecuencia alterados entre los familiares de los pacientes son los que están relacionados con diferentes aspectos del procesamiento sensorial. Estos son los que tienen más probabilidades de éxito en investigaciones genéticas.

Como vemos, son numerosos los estudios que han señalado diferentes alteraciones neurofisiológicas en pacientes esquizofrénicos. Los hallazgos más significativos han sido: las alteraciones en el movimiento de los ojos, las alteraciones en las ondas P50 y P300, la sincronía talamocortical y la inhibición del reflejo prepulso (Young, Waldo, Rutledge, III, & Freedman, 1996). La mayoría de estas alteraciones cumplen los criterios de Gottesman para ser buenos endofenotipos: son estables en el tiempo, aparecen también en familiares y son más heredables que el propio síndrome de esquizofrenia.

En cuanto a la onda P50, Freedman y su grupo han encontrado un patrón anormal de la onda P50 tanto en esquizofrénicos como en familiares no afectados (Hong et al., 2008). Esta anomalía parece que ocurre en familias y se transmite con un patrón dominante. Esta alteración neurobiológica se ha relacionado con polimorfismos en el gen codificador del receptor  $\alpha$ -7 nicotínico (Adams & Stevens, 2007). Todo ello se traduce en un déficit en el filtro atencional. Hay que recordar que el defecto atencional es una de las hipótesis más tradicionales y antiguas en la explicación etiopatogénica de la esquizofrenia (Silverman, 1964). Otros investigadores que han confirmado una alteración en los potenciales evocados, no han podido confirmar el componente genético de dichas alteraciones (Winterer, Egan, Radler, Coppola, & Weinberger, 2001).

Por otro lado, se ha investigado el componente genético de los hallazgos de neuroimagen, tanto estructural como funcional (van Haren, Bakker, & Kahn, 2008; Waddington et al., 2007). Tomados globalmente los datos vuelven a ser contradictorios. Los sujetos con riesgo de desarrollar esquizofrenia tienen algunas alteraciones estructurales (disminución del volumen del lóbulo prefrontal y el tálamo) similares,

aunque no tan marcadas como los propios pacientes esquizofrénicos, lo que sugiere que dichas alteraciones pudieran ser marcadores genéticos de vulnerabilidad.

#### **A.6) Análisis genético en la esquizofrenia. Herramientas moleculares**

Las nuevas tecnologías que ofrece la genética molecular han sido aplicadas ampliamente durante la última década; se han publicado miles de trabajos encaminados a la búsqueda del gen o genes implicados en esta enfermedad. Sin embargo, los resultados pueden parecer desalentadores, ya que hasta ahora “no hemos sido capaces de demostrar ningún gen específico principal para la esquizofrenia” (Portin & Alanen, 1997b). Sin embargo, empieza a vislumbrarse la existencia de genes o regiones cromosómicas que parecen conferir a un individuo la propensión a padecer esta enfermedad. En la búsqueda de los genes de la esquizofrenia se han seguido fundamentalmente dos aproximaciones: estudios de ligamiento y estudios de asociación a genes candidatos, además del análisis citogenético de anomalías cromosómicas macroscópicas o microscópicas. En los últimos años, los chips de ADN y las técnicas proteómicas, aplicados al análisis global de la función génica, y los GWAS parecen centrar el estudio de las enfermedades complejas.

##### **A.6.a) Estudios citogenéticos**

Los estudios citogenéticos (*citogenética: campo de la genética que comprende el estudio de la estructura, función y comportamiento de los cromosomas*) han identificado distintas anomalías cromosómicas asociadas a la esquizofrenia. Se han descrito, entre otras, trisomías parciales (*presencia de una parte de un cromosoma extra en las células*), aneuploidías (*ausencia o en un exceso de cromosomas*), inversiones (*cambio estructural por el cual un segmento cromosómico cambia de sentido dentro del propio cromosoma con relación a una secuencia considerada como típica*), deleciones (*pérdida de un fragmento de ADN de un cromosoma*) y translocaciones (*desplazamiento de un segmento de un cromosoma a un nuevo lugar en el genoma*) (Demirhan & Tastemir, 2003). Entre éstas destacan la translocación equilibrada ( $1:11(q.42.1;q14.3)$ ) y la deleción en  $22q11$ . La primera se detectó en una familia escocesa, en los miembros afectados de esquizofrenia y otros trastornos psiquiátricos relacionados (St et al., 1990). Posteriormente se demostró que el punto de rotura de la translocación en  $1q42$  interrumpe dos genes, que se han denominado *DISC1* y *DISC2* (disrupted-in-

schizophrenia 1 and 2) (Millar et al., 2000). Son estos los dos primeros genes que se han asociado directamente con el desarrollo de la esquizofrenia. Especial relevancia tiene *DISC1*, considerado con mayor consistencia hasta el momento como un factor de vulnerabilidad para la esquizofrenia. Además de la citada translocación se ha encontrado ligamiento con el *locus 1q42* en familias afectadas de diferentes procedencias (Hamshere et al., 2005; Thomson et al., 2005), así como asociación significativa con distintos polimorfismos puntuales (single nucleotide polymorphism [SNP]) de la región donde se localiza *DISC1* (Hennah et al., 2005; Tomppo et al., 2009), aunque en ambos casos los resultados no han sido totalmente replicables. *DISC1* codifica una proteína muy conservada (estable) e implicada en el neurodesarrollo; actúa mediante la interacción con múltiples proteínas (Hennah & Porteous, 2009), y se expresa fundamentalmente en mitocondrias (James et al., 2004). Se postula que la proteína *DISC1* participa en el desarrollo del cerebro, específicamente en las regiones relacionadas con procesos cognitivos relativos al aprendizaje y la memoria (Muir, Pickard, & Blackwood, 2008), y *DISC2* actúa modulando la expresión de *DISC1*.

Un buen número de estudios han confirmado que la delección en *22q11* es un factor etiológico importante en casos concretos de esquizofrenia. Aproximadamente entre el 20 y el 30% de los individuos con deleciones en dicha región desarrollan esquizofrenia o trastornos esquizoafectivos. Esta microdelección es responsable de otros síndromes como el de DiGeorge y el velocardiofacial. Se ha analizado exhaustivamente el contenido genético de la región *22q11* con el fin de determinar su relación con los distintos síndromes a los que da lugar (Bassett & Chow, 2008). Puede citarse, el gen *PRODH2*, que codifica la enzima mitocondrial prolina deshidrogenasa, y es uno de los genes cuya asociación con la esquizofrenia se ha replicado más veces (Liu et al., 2002). Posteriormente, se ha propuesto un papel clave en la esquizofrenia de otro gen situado en la región delecionada, el gen *DGCR8*, implicado en el neurodesarrollo y que codifica para una enzima involucrada en el procesamiento de los micro-RNA (miRNA) (Stark et al., 2008). Los miRNA se expresan de forma abundante en el sistema nervioso central y actualmente hay un gran número de evidencias a favor de su participación en el desarrollo embrionario y posterior maduración y funcionamiento del sistema nervioso.

Otras variaciones genómicas, como las copy number variants (CNV), que dan cuenta de pequeñas deleciones y duplicaciones (no son observables citogenéticamente),

se han considerado factores de riesgo para la esquizofrenia (International Schizophrenia Consortium, 2008a). Durante los últimos años se ha progresado mucho en el análisis de la arquitectura y en la extensión de las CNV en el genoma humano, pero todavía se está en los inicios de conocer el impacto que puedan tener en la expresión génica. Los estudios a gran escala sobre los cambios producidos de novo en las CNV han permitido dar consistencia a la hipótesis del papel clave que pueden tener las deleciones recurrentes en el genoma sometidas a selección negativa. Para Stefansson y cols. (Stefansson et al., 2008), las CNV raras bajo selección negativa representarían una importante fracción del riesgo total en la esquizofrenia (Mulle, 2008). Según los autores, esta hipótesis podría explicar por qué no se han podido identificar las variantes comunes que confieren riesgo para esta enfermedad. En una amplia muestra control de trios y de parejas padres-hijos, estos autores identificaron 66 cambios de *novo* que afectaban a las CNV. De estos cambios observaron que tres aparecieran con frecuencia significativamente mayor en pacientes con esquizofrenia que en individuos control. Se trataba de deleciones en *1q21.1*, *15q11.2* y *15q13.3*. Cada una de ellas implicaba la delección de una serie de genes, entre los que destacaban el *GJA8* (en *1q21.1*), que codifica para una conexina; el *CYFIP1* (en *15q11.2*), que codifica para una proteína que interacciona con la proteína FMRP, cuya deficiencia es responsable del síndrome del cromosoma X frágil, y el *CHRNA7* (*15q13.3*), que codifica para un receptor nicotínico (Stefansson et al., 2008). Xu y cols. han identificado cambios de *novo* en las CNV, tanto deleciones como duplicaciones, en el 10% de 152 casos esporádicos de esquizofrenia y sólo en el 1,5% de los individuos control analizados (Xu et al., 2008). Los trabajos del grupo de Walsh han indicado que la frecuencia de las CNV más comunes no difiere significativamente entre pacientes y controles; en cambio, aquellas más raras o únicas (no descritas previamente) y que afectaban a ciertos genes (involucrados en el neurodesarrollo) aparecen con una frecuencia cuatro veces mayor en los casos de esquizofrenia antes de los 18 años que en los controles (Walsh et al., 2008). En el año 2008 el Consorcio Internacional para la Esquizofrenia propuso un modelo según el cual la patogénesis de la esquizofrenia podría explicarse por la participación de las diferentes CNV del genoma, así como por la presencia de CNV raras pero muy penetrantes localizadas en *loci* específicos, como por ejemplo en *22q11.2*, *15q13.3* y *1q21.2* (74).

### A.6.b) Estudios de asociación genómica completa

En la revisión que Carlson y cols. (Carlson, Eberle, Kruglyak, & Nickerson, 2004) hacen sobre la importancia de estos estudios en la búsqueda de los genes implicados en enfermedades complejas, los autores argumentan que en las bases genéticas de las enfermedades más comunes (como la esquizofrenia) los alelos frecuentes de riesgo moderado deben tener un peso mayor que los alelos raros de alto riesgo. Mientras que el análisis de ligamiento ha demostrado ser una potente herramienta para la identificación de alelos raros de alto riesgo, los análisis de asociación parecen más indicados para detectar los alelos que tienen un efecto moderado sobre el fenotipo. En los GWAS (estudios de asociación del genoma completo) lo que se trata es de analizar la asociación de una densa colección de polimorfismos, tanto de tipo SNP como variantes estructurales CNV (variaciones en el número de copias) correspondientes a un gen, región cromosómica e incluso el genoma en su conjunto, y la enfermedad objeto de estudio. Es decir, se trata de correlacionar la existencia de unas determinadas combinaciones alélicas o haplotipos con una determinada enfermedad.

Los GWAS identifican nuevos genes, o nuevas variantes, no relacionados con ninguna de las hipótesis sobre la esquizofrenia, base de la selección de los genes candidatos utilizados en los estudios previos de asociación; este es un hecho importante, dado que los GWAS no parten a priori de ninguna hipótesis sobre la etiopatogenia de la enfermedad, y por lo tanto sus resultados pueden abrir nuevos campos de estudio. Hasta la fecha, no se obtienen resultados concordantes, ya que en cada uno de los estudios los resultados apuntan a distintos factores de vulnerabilidad. Este hecho puede interpretarse sobre la base de la heterogeneidad genética (y probablemente) clínica de las muestras (Khoury et al., 2009; Psychiatric GWAS Consortium Steering Committee., 2009).

Este tipo de estudios ha recibido recientemente un fuerte impulso debido a dos factores fundamentales: por un lado, el desarrollo de la infraestructura necesaria para la automatización de la detección masiva de polimorfismos en el ADN, y por otro, el desarrollo del proyecto HapMap, que trata de mapear toda la variabilidad genética humana (Frazer et al., 2007; The International HapMap Consortium, 2005). Las plataformas de genotipificación permiten una rápida y asequible genotipificación de cientos de miles de SNP simultáneamente (citarse los chips diseñados por las compañías



Affymetrix e Illumina). Los resultados de la fase II del HapMap (publicados en 2007) recogen 3,1 millones de SNP genotipificados a partir de 270 individuos de distintos grupos étnicos (Frazer et al., 2007).

Mencionar que la mayoría de los cambios observados en el genoma humano son cambios en una sola base, SNP. Se calcula que existen unos 11 millones de SNP (Frazer et al., 2009). Es importante diferenciar la terminología de “alelos o variantes comunes” frente a la de “alelos o variantes raras”. Habitualmente las variantes comunes se refieren a que el Valor de MAF (*frecuencia del alelo menos común*) es superior a un determinado umbral, que según los autores se fija en  $\geq 1-5\%$ , y las variantes raras cuando su valor de MAF es inferior a ese umbral. Se estima que de los 11 millones de SNP existentes en el genoma humano, 7 millones sean variantes comunes ( $MAF \geq 5\%$ ) (The International HapMap Consortium, 2005).

Debido a que los GWAS asumen la hipótesis de que la vulnerabilidad genética de las enfermedades complejas hay que buscarla entre las variantes comunes (Bodmer & Bonilla, 2008), el elevado número de estos polimorfismos podría hacer impracticable el análisis exhaustivo de haplotipos aplicado a todo el genoma humano. Existen métodos para reducir el número de SNP, seleccionando aquellos más interesantes para el análisis. Estos SNP seleccionados se han denominado “tag” SNP. Uno de los factores más importantes de selección es el desequilibrio de ligamiento, que alude a la distribución no aleatoria de los SNP entre los distintos alelos, lo que da lugar a la mayor presencia de unos haplotipos sobre otros. La fuerza del desequilibrio no es constante a lo largo del genoma, y se habla de bloques de haplotipos (Frazer et al., 2007; Frazer et al., 2009), regiones cromosómicas donde el valor de desequilibrio de ligamiento es muy alto, y que reflejan la descendencia de un cromosoma ancestral único. En estas regiones bastará analizar muy pocos marcadores para caracterizar una región. De forma que se estima que de acuerdo con la fase II del HapMap, bastaría analizar 550.000 SNP con valores de  $MAF \geq 5\%$  para cubrir toda la variabilidad del genoma humano (Frazer et al., 2009). Otros factores para seleccionar los «tag»SNP son los cambios que afectan a las regiones codificadoras: cSNP. Dado el bajo porcentaje de regiones codificadoras en el genoma humano, el orden de magnitud de los SNP que se habrán de analizar se reduciría mucho.

### A.6.c) Estudios de ligamiento

El análisis de ligamiento, basado en el estudio de genealogías familiares, en el que se analiza de forma conjunta la transmisión de una determinada enfermedad o patología y un determinado marcador molecular, ha sido y es muy útil para la localización de genes en patologías monogénicas, pero ha tenido menos éxito en el estudio de enfermedades complejas como la esquizofrenia (Crow, 1997; Crow, 2007). Los primeros estudios de ligamiento en la esquizofrenia se realizaron a finales de la década de 1980 (Bassett, McGillivray, Jones, & Pantzar, 1988; Sherrington et al., 1988). En ambos casos se constató ligamiento en la región 5q22-31 del cromosoma 5. Estos resultados no pudieron ser inicialmente validados en otras familias, aunque estudios posteriores los han apoyado (Straub, MacLean, O'Neill, Walsh, & Kendler, 1997). Esto es lo que ha ocurrido normalmente en los estudios de ligamiento en la esquizofrenia. Se demuestra que cierta región cromosómica está implicada en la susceptibilidad a esta patología, y al tratar de comprobar estos resultados en otras familias los nuevos datos son contradictorios. Para tener resultados consistentes es necesario partir de familias informativas y, si es posible, de familias integradas por un elevado número de individuos. Un ejemplo de ello lo tenemos en el estudio realizado en una familia del norte de Suecia compuesta por 3.400 miembros (Lindholm et al., 2001). Los autores del trabajo pudieron rastrear la historia familiar a través de 12 generaciones (hasta el siglo XVII). Tomaron muestras de 430 individuos esquizofrénicos y 167 parientes cercanos, y analizaron en cada una de ellas 371 marcadores moleculares distribuidos a lo largo del genoma. Los resultados demostraron, con una significación estadística elevada, que la esquizofrenia en esta familia se transmite conjuntamente con dos marcadores localizados en una región del cromosoma 6, concretamente 6q25. Esto apoya fuertemente que en esa región cromosómica se localiza un gen cuya mutación da lugar al desarrollo de la esquizofrenia. Precisamente en esa región se ha cartografiado un gen que confiere susceptibilidad al autismo (Philippe et al., 1999), y también que una delección de ese lugar cromosómico da lugar a anormalidades en el desarrollo del cerebro (Sukumar et al., 1999), todo lo cual reafirma que la región 6q25 desempeña un papel importante en el desarrollo y funcionamiento normal del cerebro.

Encontrar familias similares a la familia sueca, tan extensas y con una agregación familiar tan alta, es raro, por lo que normalmente se procede al análisis

conjunto de distintas familias (Tsuang, Stone, & Faraone, 1999). En los últimos años se han realizado numerosos estudios de ligamiento en familias de esquizofrénicos, tanto los denominados de amplio rango o completos, análisis muy laboriosos porque en ellos se estudia el ligamiento respecto a centenares de marcadores moleculares localizados a lo largo de todo el genoma, como los que se refieren al ligamiento a regiones concretas (Barrett & Teare, 2011; Cowan, Kopnisky, & Hyman, 2002; Sklar, 2002). Del resultado de estos análisis pueden derivarse que se ha encontrado ligamiento con la esquizofrenia en numerosos *loci* cromosómicos, y podemos decir que en muchos casos con valores de puntuación LOD significativos (*puntuación LOD: logaritmo de las probabilidades de que dos genes o loci se encuentren ligados y por lo tanto se heredan unidos con más frecuencia de lo habitual*). Destacar el estudio realizado por Gurling y cols. (Gurling et al., 2001), porque pone de manifiesto alguna de las hipótesis antes mencionadas sobre las bases genéticas de la esquizofrenia, en particular la heterogeneidad genética. Estos autores partieron de 13 familias, 5 británicas y 8 islandesas, que además de presentar una alta agregación familiar eran de genealogía extensa. Centrarón su estudio en una serie de *loci* cromosómicos en los que previamente se había detectado ligamiento (o al menos indicios de éste), y hallaron ligamiento estadísticamente significativo en los *loci* 1q32.2, 5q33.2, 8p21-22, 11q23.3-24 y 20q12.1-11.23. Esto indica que son varias regiones cromosómicas y, por tanto, varios genes, los implicados en el desarrollo de la esquizofrenia en estas familias. Incluso encuentran ligamiento significativo en dos *loci* (4q13-31 y 11q23.3-24) dentro de una misma familia, lo que realmente demuestra la complejidad genética de esta patología. Otro estudio con resultados muy congruentes es el de Brzustowicz y cols. (Brzustowicz, Hodgkinson, Chow, Honer, & Bassett, 2000), en el que encuentran en la región 1q21-22 la puntuación LOD más alta de las obtenidas hasta ahora. Si aceptamos como evidencias de ligamiento todos aquellos casos en los que se hayan obtenido valores positivos de la puntuación LOD (aunque sean inferiores a 3), puede decirse que se han encontrado regiones candidatas para la esquizofrenia en prácticamente todos los cromosomas.

Para un mismo locus cromosómico se han encontrado resultados contradictorios: en unos casos indicios o evidencias de ligamiento y en otros no. Ante esta situación, cabe preguntarse, ¿cuál puede ser la causa de la falta de replicabilidad de los resultados? En primer lugar, la falta de definición del fenotipo puede ser el principal obstáculo para obtener resultados consistentes en cualquier aproximación al estudio

genético de la esquizofrenia. La mayoría de los estudios realizados se basan en el análisis de familias con un pequeño número de miembros, por lo que deben reunirse datos procedentes de diferentes familias. Es obvio que si el fenotipo no está bien definido, la heterogeneidad clínica de la muestra imposibilita o entorpece cualquier tipo de análisis genético. Es posible que se estén mezclando datos procedentes de distintas enfermedades. Esto puede explicar, por ejemplo, los resultados negativos obtenidos en los exhaustivos análisis de amplio rango aplicados a un gran número de familias (Levinson et al., 1998; Shaw et al., 1998; Silverman et al., 1996). En segundo lugar, aun en el supuesto de que el fenotipo quedara inequívocamente establecido y que hubiera un solo fenotipo esquizofrénico, si existe heterogeneidad genética es posible que las distintas familias lleven mutaciones en distintos genes. Esto conduce, por un lado, a que datos perfectamente consistentes de ligamiento a un *locus* determinado en una familia no lo sea en otra, y por otro que al reunir familias se obtengan muestras heterogéneas y, por tanto, resultados inconsistentes.

La falta de definición del fenotipo esquizofrénico ha llevado a la búsqueda de fenotipos alternativos y endofenotipos. Por ejemplo se ha buscado el ligamiento a subfenotipos clínicos en lugar de a la esquizofrenia como patología global. En este sentido, Stober y cols. han hallado fuertes evidencias de ligamiento con la catatonía periódica como un subtipo de la esquizofrenia (Stober et al., 2000), o el ligamiento detectado al *locus 8p22-8p21* de algunos de los síntomas de la esquizofrenia, como son el alto grado de deterioro afectivo, el desorden del pensamiento y un peor pronóstico (Kendler et al., 2000), el síndrome velocardiofacial asociado a la deleción *22q11* (Prasad, Howley, & Murphy, 2008), las alucinaciones auditivas (Sanjuan et al., 2006), etc. Por otra parte, a lo largo de los últimos años han mejorado mucho los métodos de análisis, tanto moleculares como estadísticos, aplicados al ligamiento. El número de marcadores moleculares del genoma humano ha aumentado considerablemente en los últimos años, lo que facilita enormemente este tipo de análisis. Respecto de los métodos estadísticos utilizados, aunque ha sido muy útil la aplicación de la puntuación LOD en las enfermedades monogénicas, este método presenta una serie de limitaciones al aplicarse a las enfermedades complejas en general y a la esquizofrenia en particular. Por eso se han desarrollado algoritmos que tratan de ajustarse a la dinámica de los caracteres complejos, como son la puntuación LOD que asume heterogeneidad genética (Ott, 1991) o los métodos no paramétricos de análisis (Strachan & Read, 2001). En relación

con la esquizofrenia, por ejemplo, Levison y cols., aplicando el análisis ASP (affected siblings pairs), encuentran valores significativos de ligamiento en el cromosoma 6 (Levinson et al., 2000).

Otra vía para dar consistencia a los resultados del ligamiento consiste en realizar análisis masivos mediante metaanálisis, si bien hay que tener en cuenta que, aunque los metaanálisis permiten aumentar considerablemente el tamaño de la muestra, llevan implícito el aumento de la heterogeneidad genética. El resultado de los metaanálisis en esquizofrenia tampoco ha identificado *loci* cromosómicos de forma consistente (Crow, 1997). Así, por ejemplo, mientras algún estudio (Badner & Gershon, 2002; Lewis et al., 2003) encuentra el ligamiento más significativo en *8p*, *13q* y *22q*, en otro (Lewis et al., 2003) realizado en una amplia muestra que recoge un total de 3.255 familias procedentes de 32 estudios independientes, se encuentran evidencias sugestivas de ligamiento en *5q* (142-168 Mb) y *2q* (103-134 Mb) (Ng et al., 2009). Tomando todos los resultados de ligamiento en conjunto, las regiones cromosómicas en las que se ha encontrado ligamiento con la esquizofrenia con una mayor significación estadística y en las que se haya replicado este resultado en otras muestras (aunque no lo hayan sido con el mismo nivel de significación) son: *6p22-24*, *1q21-22* y *13q32-34* (Owen, Williams, & O'Donovan, 2004).

Una vez determinada la región cromosómica en la que se ha detectado ligamiento a la esquizofrenia en una o varias familias, surge la cuestión de cómo encontrar los genes que realmente están condicionando la aparición de esta patología. Las regiones cromosómicas en las que se detecta ligamiento son normalmente muy amplias, lo cual supone que pueden contener numerosos genes. Antes de que se conociera la secuencia completa del genoma, se tenían que rastrear e identificar pacientemente todos los genes contenidos en la región. Una vez definidos los genes de la región problema, había que determinar cuál de ellos era el causante de la patología en estudio. Para ello se calibraba el efecto que las mutaciones en cada uno de los genes sobre el fenotipo esquizofrénico. Con el Proyecto Genoma Humano se ha facilitado en parte la tarea. Una vez que se ha encontrado ligamiento en una región cromosómica, por ejemplo la *6q25*, se pueden encontrar directamente los genes que pueblan esa región cromosómica mediante una búsqueda en los bancos de datos. En este caso, en la región

6q25 están descritos unos 30 genes en la base OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man, del National Center for Biotechnology Information [NCBI])

Por lo tanto, aunque todavía no se pueda establecer con firmeza que un determinado gen de una determinada región cromosómica esté implicado de forma incontrovertible en la etiopatogenia de la esquizofrenia, empiezan a caracterizarse genes incluidos en las regiones cromosómicas en las que se ha detectado ligamiento y que pueden tener un papel importante.

#### **A.6.d) Estudios de asociación de los genes candidatos**

Debido a las limitaciones en la búsqueda de los genes de la esquizofrenia mediante ligamiento, se han explorado otros métodos de análisis, entre los que destacan los estudios de asociación. Esta vía tiene sus ventajas sobre los estudios de ligamiento, pero también sus limitaciones, y puede considerarse un buen camino para detectar genes con un efecto pequeño sobre el fenotipo. Uno de los métodos de asociación más utilizados en la esquizofrenia es el denominado caso-control, que se basa en la estimación de las frecuencias de los distintos alelos de un determinado gen en pacientes y controles. Si hay diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, puede establecerse que un determinado alelo o genotipo está asociado a una determinada enfermedad, siempre y cuando estos hallazgos sean replicados en muestras independientes, ya que existen muchos falsos positivos.

En cuanto a las variantes alélicas deben ser analizadas, los estudios de asociación parten de lo que se ha llamado “genes candidatos”. En los estudios de ligamiento se buscan al azar regiones cromosómicas donde puede estar localizado el gen de interés; no se necesita ninguna hipótesis sobre la naturaleza de la enfermedad, ni plantear a priori qué gen o genes deben buscarse. Los estudios de asociación parten de los mecanismos biológicos que conducen al desarrollo de una enfermedad y necesitan de hipótesis previas sobre los mecanismos de acción de genes potencialmente implicados.

Los estudios de asociación con los genes candidatos empiezan a dar resultados consistentes actualmente, aunque en la mayoría de los casos los resultados hayan sido contradictorios. Dos razones se han aducido principalmente para explicar la falta de consistencia de los resultados en los estudios de casos y controles: por un lado, los

errores en los resultados positivos, falsos hallazgos de asociación entre un determinado genotipo y la esquizofrenia debidos a un error en el diseño del estudio, por una mala selección de la población control cuando en esta hay estratificación. Pueden encontrarse diferencias en las frecuencias alélicas entre la población de afectados y la población control simplemente porque procedan de distintas etnias o poblaciones (estratificación poblacional), y éstas sean portadores de distintas frecuencias de los alelos en estudio, con independencia de que los individuos de la población afectada sean esquizofrénicos o no. Se han propuesto métodos de estudio alternativos al de casos y controles, como es el caso del Transmission Disequilibrium Test (TDT) (Spielman & Ewens, 1996), que tratan de obviar este problema. Sin embargo, el problema de la estratificación puede ser soslayado con una cuidada selección de la población control. Por otro lado, es posible que el método utilizado en los estudios de asociación no tenga suficiente potencia para detectar diferencias significativas.

No hay que olvidar que la esquizofrenia es una enfermedad genéticamente compleja y heterogénea. Para aumentar la potencia de estos estudios se han seguido distintas estrategias. Una ha consistido en aumentar el tamaño de la muestra mediante la realización de metaanálisis. De entre todos los meta-análisis publicados en genética de esquizofrenia, destacar el estudio realizado por Allen y cols. (Allen et al., 2008) a partir de la base de datos SzGene. El metaanálisis se basó en datos de al menos cuatro estudios de asociación de casos y controles, relativos a 118 variantes de 52 genes. Se encontraron asociación significativa en 24 variantes ( $p \leq 0,05$ ) y únicamente dos con valores de  $p \leq 0,001$ , correspondientes al receptor de la dopamina DRD2 y al gen *TPH* (triptófano hidroxilasa), esencial en la síntesis de la serotonina. Otra de las estrategias para aumentar la potencia de los estudios de asociación es aumentar el número de variables analizadas. Si el objeto de estudio es un solo gen, es posible que aun cuando esté realmente implicado en la esquizofrenia, su efecto sea tan pequeño que no sea posible discriminarlo por una sencilla prueba de asociación. Para ello se hace necesario el análisis conjunto de los polimorfismos. En la medida en que podamos analizar, en cada individuo afectado, el conjunto de cambios presentes en cada uno de los genes candidatos, podremos avanzar en esta maraña de resultados sobre las bases genéticas de la esquizofrenia. Por todo esto, los estudios de asociación de amplio rango parecen un camino prometedor en este esfuerzo.

Referente a los genes que pueden ser candidato de la esquizofrenia, hay que recordar que en los inicios de los estudios de asociación, L. E. DeLisi afirmó (DeLisi, 1999): “No hay un gen candidato para la esquizofrenia. No se ha encontrado ninguna ruta metabólica que sea defectuosa o imperfecta en individuos que desarrollan la esquizofrenia”. En los últimos años se ha trabajado extensamente en distintos tipos de genes candidatos y en algún caso se ha encontrado una relación más o menos consistente entre el genotipo y el desarrollo de la esquizofrenia. Datos del Schizophrenia Research Forum (junio de 2009) indican que se han analizado un total de 7.094 polimorfismos relativos a 787 genes candidatos en 1.439 estudios. La mayoría de estos genes derivan de las hipótesis fisiopatológicas de la enfermedad. Hay que recordar que las principales hipótesis fisiopatológicas de la esquizofrenia proceden de varios tipos de fuentes:

- Alteraciones del neurodesarrollo. A partir de estudios neuropsicológicos y de seguimiento longitudinal. Los genes implicados serían genes que afectan al neurodesarrollo precoz o tardío.
- Hipótesis bioquímica. Los mecanismos de acción de los antipsicóticos y la producción de síntomas psicóticos con drogas o fármacos. Los genes candidatos serían genes que influyen en la síntesis, liberación, acción (receptores) o metabolización de los neurotransmisores.
- Hallazgos anatomopatológicos. Estos estudios serían a priori los que más directamente podrían facilitar un gen candidato. Sin embargo, la ausencia de datos anatomopatológicos consistentes en la esquizofrenia es algo proverbial. Una excepción son los hallazgos de L. D. Selemon y P. S. Goldman-Rakic sobre la disminución del neurópilo en la región prefrontal (Selemon & Goldman-Rakic, 1999). Si estos hallazgos se confirman, entender los posibles mecanismos moleculares que los han provocado puede ser uno de los caminos más seguros para el descubrimiento de los genes implicados.
- Alteraciones estructurales o funcionales. Halladas en determinados circuitos cerebrales a partir de los datos de neuroimagen estructural y funcional. Los posibles genes implicados serían aquellos que influyen en la conectividad neural o en los mecanismos de degeneración neural.



- Genes funcionales. Procedentes del rastreo de las regiones cromosómicas en las que se ha detectado ligamiento y que por sus características funcionales puedan ser relacionados con la fisiopatología de la esquizofrenia.

Un buen grupo de genes candidatos y potencialmente implicados en la esquizofrenia, en sentido amplio, son los relacionados con el neurodesarrollo y otros procesos neurales. Este grupo está muy poco definido. Los genes analizados lo han sido al considerar que pueden tener un papel en la fisiología y desarrollo del cerebro y, por lo tanto, estar implicados en la etiopatología de la esquizofrenia. Dentro de este grupo pueden citarse una colección inacabable de genes candidatos, entre ellos los genes *DISC1* y *RELN*, ambos implicados en el neurodesarrollo y que hasta ahora pueden considerarse los factores de riesgo para la esquizofrenia con más consistencia (Hennah et al., 2005; Hennah & Porteous, 2009; Tomppo et al., 2009), y el *DISC1* asociado a la translocación (1;11)(q.42.1;q14.3) (Di & Hudson, 2005). De hecho *DISC1* es el gen que ocupa el primer lugar en la lista de los candidatos a la esquizofrenia recogida en el Schizophrenia Research Forum. El gen *RELN* codifica para la reelina, proteína implicada en la neurogénesis (parece ser esencial en la migración neuronal, laminación cortical, sinaptogénesis y plasticidad neuronal) y presenta una regulación diferencial en la esquizofrenia (disminuye su expresión en distintas áreas cerebrales).

Por otro lado, recordar que para algunos autores los genes que más han sido replicados en estudios de asociación son: *NRG1*, que codifica la neuregulina; *DYSNBP1*, que codifica la disbindina; *G72*, que codifica la proteína G72; *DAAO*, que codifica la D-amino-ácido oxidasa; *RGS4*, que codifica la proteína G4 de señalización; *PRODH*, que codifica la prolina deshidrogenasa, y el *COMT*, que codifica la catecol-O-aminotransferasa. Dichos autores los consideraron “los genes de la esquizofrenia” (Harrison & Owen, 2003; Owen et al., 2004). La neuregulina está implicada en la gliogénesis y la migración neuronal en el desarrollo del sistema nervioso central. Se encontró una fuerte asociación entre distintos marcadores del gen *NRG1* y la esquizofrenia en una población islandesa (Stefansson et al., 2002). Estos resultados han sido claramente replicados en poblaciones escocesas y chinas (Stefansson et al., 2003; Tang et al., 2004). La disbindina se expresa en el cerebro y otros tejidos. En el cerebro se localiza en ciertas terminales axónicas, especialmente en el cerebelo e hipotálamo. En un estudio de haplotipos en familias irlandesas se identificaron varios marcadores en el

gen *DYSNBPI* asociados significativamente con la esquizofrenia (Straub et al., 2002). Se ha conseguido una réplica parcial o total de estos resultados en poblaciones de distinto origen geográfico (Li et al., 2003; Schwab et al., 2003; Williams et al., 2004). Dentro de la región 13q22-34, una de las que ha dado resultados más coherentes en estudios de ligamiento, se realizó un análisis sistemático de SNP a lo largo de 5 Mb en una muestra de 213 pacientes esquizofrénicos y 241 controles procedentes de Canadá. Se encontró una asociación significativa con polimorfismos del gen *G72*. Esta proteína se expresa en el cerebro y está sometida a una elevada tasa evolutiva en primates. Los mismos autores comprobaron, mediante un ensayo de asociación proteína-proteína, que *G72* forma complejos con la proteína DAAO (D-aminoácido oxidasa). Esta última oxida la D-serina, un potente activador del receptor del glutamato tipo NMDA. Aunque la esquizofrenia ya se había asociado al gen *DAAO*, se ha comprobado que la combinación *G72/DAAO* tiene un efecto sinérgico sobre dicho síndrome (Schumacher et al., 2004). En el caso del gen *RGS4*, el interés por su estudio vino por una doble vía. Por un lado, está localizado en la región *1q21-q22* (otra de las regiones importantes de ligamiento) y, por otra, presenta expresión diferencial entre pacientes esquizofrénicos y controles en estudios con microseries (Mirnics, Middleton, Marquez, Lewis, & Levitt, 2000). Los análisis de haplotipos han demostrado asociación a distintos SNP de *RGS4* en poblaciones de distinto origen étnico (Chowdari et al., 2002; Morris et al., 2004). Finalmente, está el gen *PRODH2*, localizado en la región de las deleciones en *22q11*, cuyas mutaciones parecen conferir susceptibilidad a la esquizofrenia (Liu et al., 2002).

Según proponen Harrison y Owen (Harrison & Owen, 2003), el interés conjunto de todos estos genes, reside en la posibilidad de que confieran susceptibilidad a la esquizofrenia a través de la transmisión glutamatérgica por los receptores NMDA. La proteína DAAO puede actuar directamente al metabolizar la D-serina, un modulador endógeno del receptor. *G72* probablemente activa DAAO. La neuregulina promueve la migración y diferenciación neuronal. *RGS4* es un regulador negativo de los receptores acoplados a la proteína G, incluidos los receptores metabotópicos del glutamato. La disbindina se localiza en las terminales presinápticas, y *PRODH* puede afectar a las sinapsis glutamatérgicas por distintas vías. Como en casos anteriores, los resultados han sido contradictorios. Por ejemplo, el estudio de asociación realizado en una amplia muestra de procedencia europea: 1.870 casos (de esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo) y 2.002 controles, sobre 14 genes candidatos entre los que se incluían

los genes citados. En ningún caso se ha encontrado asociación significativa (Sanders et al., 2008), mientras que en otros se ha encontrado asociación significativa con alguno de ellos, como la disbindina (Duan et al., 2007; Vilella et al., 2008).

El grupo de genes candidatos relacionados con los neurotransmisores, es el que ha sido objeto de un mayor número de estudios de asociación, especialmente sobre la dopamina y la serotonina. La hipótesis dopaminérgica ha sido la que ha tenido un mayor impacto; según esta hipótesis, la esquizofrenia puede ser causada por una disfunción en el sistema dopaminérgico (ver subapartado *Hipótesis Dopaminérgica*). Esta hipótesis no ha podido ser demostrada y se basa en evidencias farmacológicas indirectas. Desde el descubrimiento de los neurolépticos, la acción que ejercían éstos bloqueando la dopamina sugirió la hipótesis de que en la esquizofrenia podía ocurrir lo contrario que en la enfermedad de Parkinson: que dicho neurotransmisor estuviera aumentado. Sin embargo, los intentos de demostrar una hiperactividad dopaminérgica, una alteración primaria en la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos o una pérdida neural de dichas neuronas han dado resultados tan contradictorios como inconsistentes (Crow, 2000a). No obstante, la hipótesis dopaminérgica se mantiene viva en la actualidad bajo la reformulación que llevó a cabo D. R. Weinberger en 1987 (Weinberger, 1987). Según la propuesta de este autor, existiría una hiperactividad dopaminérgica, sobre todo de D2 en el sistema límbico, que explicaría los síntomas positivos, y una hipoactividad de D1 a nivel prefrontal, que sería la causa de los síntomas negativos. En los últimos años la demostración de la eficacia de los llamados antipsicóticos atípicos, que tienen un claro efecto serotoninérgico, ha forzado a plantear las hipótesis neuroquímicas como un desequilibrio entre ambos sistemas de neurotransmisores (Kerwin, 2000). En cualquier caso, a pesar de que la hipótesis dopaminérgica en cada una de las formas en que se ha venido planteando en los últimos 40 años sea excesivamente simplista, parece que directa o indirectamente el sistema dopaminérgico está implicado, en algún grado, en el mecanismo fisiopatológico de este trastorno (Howes & Kapur, 2009). Partiendo de esta aseveración se comprende el estudio exhaustivo de los genes relacionados con el sistema dopaminérgico.

Se han analizado los genes que codifican para los cinco receptores de la dopamina: DRD1, DRD2, DRD3, DRD4 y DRD5, especialmente los receptores de tipo DRD2, el propio DRD2, el DRD3 y el DRD4. En cada uno de los genes que codifican

estos receptores se han descrito numerosos polimorfismos. Tomando por ejemplo el DRD2, se han encontrado cambios en la región promotora del gen (*—141 Ins/Del*), y numerosos SNP a lo largo de la región codificadora: *Taq 1A (rs1800497)*, *Taq 1B (rs107597)*, *Ser311Cys (rs1801028)*... La mayoría de estos cambios dan lugar a variaciones en la señalización del receptor y han sido analizados en estudios de casos y controles en vistas a su posible relación con la esquizofrenia. En conjunto puede afirmarse que los resultados sobre estos polimorfismos son contradictorios. Tomando por ejemplo el polimorfismo *—141 Ins/Del*, que consiste en la existencia de dos alelos en la región reguladora del gen, Arinami y cols. (Arinami, Gao, Hamaguchi, & Toru, 1997) encontraron una clara asociación del alelo *—141 Ins* con la esquizofrenia en una población japonesa, Breen y cols. (Breen et al., 1999) encontraron asociación con el otro alelo *—141 Del* en una población escocesa-británica. Es interesante destacar que el único de los SNP analizados del DRD2 en el que se ha demostrado que afecta a la funcionalidad del gen, el *rs6277*, un metaanálisis evidencia asociación significativa de éste con la esquizofrenia (Allen et al., 2008).

Respecto al resto de receptores, resultados similares se han encontrado, así como en los genes implicados en el transporte (*DTA 1*), el metabolismo (*COMT*) y la modulación (*CCK*) de la dopamina. En relación con la cistocinina, se han encontrado resultados positivos de asociación entre el receptor de la colecistocinina CCK-A y el subfenotipo esquizofrénico de las alucinaciones auditivas (Toirac et al., 2007; Wei & Hemmings, 1999). Entre todos estos genes merece destacarse el gen *COMT*, que codifica la catecol-O-metiltransferasa, implicada en el catabolismo de las catecolaminas, que desempeña un papel especial en el metabolismo cortical de la dopamina (Gogos et al., 1998). El grupo de D. R. Weinberger ha estudiado exhaustivamente la posible relación de este gen y el desarrollo de la esquizofrenia. En distintos análisis se ha replicado la asociación del polimorfismo *Val108/158Met* con dicha patología (Egan et al., 2001b). Se ha demostrado que este cambio afecta a la actividad de la enzima e influye sobre la función del lóbulo frontal y la actividad dopaminérgica presináptica (Goldberg et al., 2003; Mattay et al., 2003). Además de todo esto, el gen *COMT* se encuentra localizado en la región *22q11*, cuya delección se asocia en muchos casos con el desarrollo de esquizofrenia. Por todo ello, los polimorfismos de este gen se han analizado repetidamente como posibles factores de riesgo para la esquizofrenia, aunque

con resultados contradictorios (Funke et al., 2005; Harrison & Weinberger, 2005; Okochi et al., 2009; Tsai, Hong, Hou, & Yen, 2006).

A todo lo previo, habría que sumar las fuertes interrelaciones funcionales de los neurotransmisores (además de la dopamina) implicados en la esquizofrenia: la serotonina, el glutamato, la colecistocinina, la noradrenalina, la acetilcolina, el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), etc. Se han detectado y analizado cuidadosamente numerosos polimorfismos en genes relacionados con estos sistemas de neurotransmisores en relación con la esquizofrenia. Entre ellos, destacan los genes implicados en el sistema serotoninérgico, como son aquellos que forman parte de las tres principales familias de receptores (5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub> y la familia que incluye a 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub> y 5-HT<sub>6</sub>), el transportador de la serotonina (5-HTT) y los genes implicados en el metabolismo de la serotonina, como los que codifican para las monoaminooxidasas (MAOA y MAOB). Entre los numerosos polimorfismos analizados, el cambio *102T/C* del receptor 5-HT<sub>2</sub> se ha asociado consistentemente con la esquizofrenia (Spurlock et al., 1998; Williams et al., 1996), aunque en otro estudio los resultados hayan sido negativos (Arranz et al., 1996), y el polimorfismo *5-HTTLPR* localizado en la región promotora del transportador de la serotonina (5-HTT). Se ha demostrado que el polimorfismo *5-HTTLPR* afecta a la actividad transcripcional del gen (Lesch et al., 1996) y se ha asociado repetidamente (junto a otros polimorfismos del gen) a distintos síntomas psicóticos (Lin et al., 2009; Sanjuan et al., 2006; Zaboli et al., 2008). Con respecto a otros sistemas de neurotransmisores (tan importantes como el del glutamato), los primeros estudios de asociación realizados, con sus distintos tipos de receptores, en especial los relativos a las subunidades NMDA, en pacientes esquizofrénicos, fueron negativos (Brzustowicz et al., 1999; Liu et al., 2001). Sin embargo, un grupo de genes que han tenido bastante apoyo como genes candidatos de la esquizofrenia parecen estar relacionados con una conectividad sináptica anormal por los receptores NMDA (Harrison & Owen, 2003; Harrison & Weinberger, 2005).

Del resto de genes objeto de estudios de asociación, caben mencionar aquellos que se localizan en las regiones en que se ha detectado ligamiento para la esquizofrenia, lo que apoya su posible implicación con esta patología, como es el caso del gen *Notch4* perteneciente a una familia de receptores transmembrana y que parece desempeñar un papel central en la determinación del destino celular, al regular la extensión y

elaboración de las neuritas en el ratón (Sestan, Artavanis-Tsakonas, & Rakic, 1999). Además, *SYN3* codifica para la sinapsina III, perteneciente a la familia génica de las sinapsinas implicadas en la regulación de la sinaptogénesis y de la liberación de los neurotransmisores. *ZNF74* es un factor de transcripción que se expresa en el cerebro y está localizado en el mismo locus de la sinapsina III; también están los factores neurotróficos BDNF (factor neurotrófico cerebral), GDNF (factor neurotrófico glial) y NT-3 (neurotrofina-3). Se pueden citar también genes implicados en diversas funciones celulares, como es el gen del canal de potasio (HKCa3), de las haptoglobinas (Hp-1, Hp-2 y Hp-3) y de la proteína L1 de adhesión celular neural (CAM), la sintetasa del óxido nítrico neuronal, la prodocaderina-XY (una molécula de adhesión celular que se expresa en el cerebro, potencialmente asociada a la evolución del lenguaje)... En todos los casos, los resultados de asociación a la esquizofrenia han dado resultados contradictorios (Carlson et al., 2004; Fan et al., 2002; Imai et al., 2001; Lee, Kunugi, & Nanko, 2001; Ohtsuki, Ichiki, Toru, & Arinami, 2000; Sakurai, Migita, Toru, & Arinami, 2002; Takase et al., 2001; Ujike et al., 2001; Virgos et al., 2001; Wei & Hemmings, 2000).

#### **A.7) Epigenética y esquizofrenia**

En los últimos años y de forma progresiva, los cambios epigenéticos han adquirido una especial relevancia como factores etiopatogénicos de la esquizofrenia. De forma que frente a la hipótesis más ampliamente aceptada de que el desarrollo de la esquizofrenia se debe a la interacción entre los cambios en una serie de genes y el ambiente, alternativamente se ha propuesto que se deba a la interacción entre mutaciones epigenéticas, “epimutaciones” y el azar (Oh & Petronis, 2008). Los cambios epigenéticos incluyen todos los cambios heredables en la expresión de los genes que no están codificados en sí mismos en la secuencia de ADN. Estos cambios están determinados por distintos mecanismos moleculares, entre los que destacan la metilación del ADN y las modificaciones de las proteínas a las que está unido: las histonas. Estos cambios determinan que el ADN este o no accesible a las proteínas que intervienen en el proceso de transcripción de los genes. Los patrones de los cambios epigenéticos no son rígidos; son sistemas dinámicos que pueden ser modificados por distintos factores, como el origen paterno, programa de desarrollo, ambiente intracelular y extracelular..., lo que podría explicar por qué los gemelos monocigóticos, con

exactamente la misma información genética, presentan un importante porcentaje de discordancia para la esquizofrenia (Singh, Murphy, & O'Reilly, 2002). Además, el hecho de que los cambios epigenéticos (como la acetilación de las histonas), puedan ser modificables por algunos fármacos implica un enorme potencial para la investigación epigenética en el campo del tratamiento terapéutico. Aunque no se tienen hasta el momento evidencias experimentales directas que la apoyen, no puede descartarse que la esquizofrenia aparezca como resultado de la interacción entre una serie de genes con pequeño efecto, procesos epigenéticos y factores ambientales (Psychiatric GWAS Consortium Steering Committee., 2009).

Issidorides y cols. (en 1975) observaron algunas diferencias en la ultraestructura de la cromatina del núcleo de las células neutrófilas entre los pacientes esquizofrénicos y los controles (Issidorides, Stefanis, Varsou, & Katsorchis, 1975). Estos resultados fueron replicados más tarde por otros autores (Kosower et al., 1995). En la década de 1960, algunos grupos examinaron el efecto de la L-metionina administrada a los pacientes con esquizofrenia. Este aminoácido es un precursor de la biosíntesis de la S-adenosilmetionina, el principal donante de grupos metilo en el mecanismo de metilación del ADN. Entre el 60 y el 70 % de los pacientes sufrieron una exacerbación de los síntomas de la enfermedad (Wyatt, Benedict, & Davis, 1971). La explicación que actualmente se ha dado a estos resultados es que el tratamiento con metionina puede inducir la hipermetilación de una serie de genes, causándoles su inactivación transcripcional. Entre tales genes estarían aquellos que constituyen los factores de riesgo de la esquizofrenia, como *RELN* y *GAD67*, de los cuales se ha descrito, que su expresión está reducida en los cerebros post mortem de los pacientes con esquizofrenia (Costa et al., 2002). Una de las primeras evidencias de que la modificación de las histonas podría contribuir, como un regulador epigenético de la expresión génica, a la esquizofrenia fue aportada por el trabajo de Akbarian y cols. (Akbarian et al., 2005). En su serie de pacientes identificaron un subgrupo en el que apreciaron una disminución de la expresión de 4 genes, lo cual iba acompañado por mayores niveles de metilación de una de las histonas, la H3. Tales genes participan en varias rutas metabólicas, como la del metabolismo de la ornitina, el ciclo de los ácidos tricarbóxicos y la cadena de transporte electrónico.

El trabajo del grupo de Tsujita (Tsujita et al., 1998) supone uno de los primeros intentos de analizar las posibles diferencias epigenéticas a gran escala (que afectasen a todo el genoma) asociadas a la esquizofrenia. Los autores determinaron, en el ADN procedente de una pareja de gemelos monocigóticos discordantes para la esquizofrenia, el patrón de restricción para la enzima NotI (una enzima sensible a la metilación). Los resultados indicaron la presencia de algunas dianas NotI con diferente nivel de metilación entre ambas muestras. Actualmente están disponibles las técnicas que permiten conocer el epigenoma a través de los patrones de metilación del ADN y de modificación de las historias. Recientemente, a partir de muestras de la corteza prefrontal de pacientes con esquizofrenia, se han utilizado microseries basadas en islas CpG (cytosine, phosphodiester bond, and guanine) para identificar los cambios en la metilación del ADN a nivel genómico (Mill et al., 2008). Se identificaron diferencias en la metilación de un número importante de loci, algunos de ellos involucrados en la neurotransmisión glutamatérgica y gabaérgica, desarrollo cerebral y metabolismo. A medida que se lleven a cabo experimentos similares y se amplíe esta tecnología a las modificaciones de la cromatina, se irán aportando nuevos datos a favor del modelo epigenético de la esquizofrenia.

#### **A.7.a) Chips de ADN**

Las técnicas genómicas y proteómicas posibilitan el examen de forma rápida y precisa de un gran número de productos génicos al mismo tiempo (un estudio a gran escala de forma automatizada). Estas técnicas tienen como objetivo la investigación de las posibles diferencias entre las muestras procedentes de un sistema alterado (debido a una enfermedad) y de un sistema no alterado (situación normal).

Los chips de ADN permiten analizar la expresión global de los genes pertenecientes a un tejido, órgano, estadio de desarrollo, etc. Es decir, permiten analizar lo que ahora se denomina el transcriptoma (Ito & Ouchi, 2003). Además, no sólo permiten detectar simultáneamente los cientos o miles de genes que se expresan en una determinada muestra biológica, sino también cuantificar de forma relativa la abundancia de los ácidos ribonucleicos mensajeros (ARNm) entre distintas muestras (Lockhart & Barlow, 2001). Si entendemos que en la esquizofrenia intervienen un número (posiblemente muy alto) de alelos de riesgo moderado, también podemos asumir que muchos de estos alelos induzcan cambios moderados en el nivel de expresión del gen al



que pertenecen. Los chips de ADN se presentan como una herramienta idónea para detectar estos cambios. Atendiendo a esto, los chips pueden utilizarse para la identificación de genes candidatos, que serían aquellos genes que presentasen patrones diferenciales en los rastreos globales de expresión de ARNm entre las muestras procedentes de los pacientes, en nuestro caso pacientes con esquizofrenia, respecto a las muestras procedentes de los individuos control.

Es importante entender que los chips son colecciones de secuencias de ADN depositadas e inmovilizadas en un soporte sólido con un orden establecido. Si los ADN del chip se ponen en contacto con una población de ARNm extraídos de un tejido, sólo hibridarán aquellas secuencias que correspondan a los genes que se expresen en dicho tejido, y la señal de hibridación será más intensa cuanto mayor sea dicha expresión (ya que también será mayor la cantidad de ARNm). En el caso de la esquizofrenia, la casa Affymetrix construyó un chip con 6.000 secuencias génicas que potencialmente se expresan en el cerebro y que incluyen, entre otros, genes implicados en la neurotransmisión, el desarrollo, la plasticidad sináptica, la transducción de señales, el citoesqueleto, los receptores, los transportadores y los canales iónicos. En cuanto a qué regiones cerebrales son el foco de atención en este tipo de estudios (de las que se extraen los ARNm para las hibridaciones), una de las elegidas ha sido la corteza prefrontal. Esta región se considera clave en la fisiopatología de la esquizofrenia de acuerdo con el gran número de estudios clínicos, de neuroimagen y post mortem realizados.

El primer estudio en esquizofrenia con chips de ADN se realizó a partir de ARNm extraídos de la corteza prefrontal de cerebros post mortem procedentes de 10 pacientes y 10 controles (Owen et al., 2004). Se utilizó un chip con 7.800 secuencias génicas construido por Incyte Genomics Inc, (Palo Alto, California, Estados Unidos) (Yue et al., 2001). El resultado fue la identificación de una disminución general de la expresión de los genes implicados en la regulación de la función presináptica en los pacientes esquizofrénicos, Algunos de los genes afectados fueron el factor sensible a la N-etilmaleimida, la sinapsina II, la sinaptojanina 1 y la sinaptotagmina 5. Otros genes cuya expresión también se vio reducida fueron los implicados en la neurotransmisión del glutamato y del GABA. Posteriormente, el mismo grupo identificaba otros genes afectados en la misma cohorte de pacientes: se trataba del regulador de la proteína G de

señalización 4 (RGS4) y de varias subunidades G (Mirnics, Middleton, Stanwood, Lewis, & Levitt, 2001). De forma que el hallazgo más consistente de estos dos primeros estudios con chips de ADN fue la disminución de la expresión del gen RGS4 en la corteza prefrontal de los pacientes esquizofrénicos. Destacar que también se ha detectado la reducción de la expresión de este gen en la corteza prefrontal en un posible modelo animal de esquizofrenia: ratas en las que se ha lesionado la región ventral del hipocampo. Estos animales muestran retraso en el inicio del comportamiento hiperdopaminérgico, que se considera que se correlaciona con algunos aspectos fisiopatológicos de la esquizofrenia (Marcotte, Pearson, & Srivastava, 2001). Como vemos, los resultados obtenidos de los primeros estudios de chips de ADN no han identificado a los genes involucrados en ciertos neurotransmisores, que se considera que están alterados en la esquizofrenia (dopamina, serotonina, acetilcolina, etc). La razón hay que buscarla en el número tan bajo de transcritos correspondientes a estos genes en los chips de ADN inicialmente construidos.

Hakak y cols., aplicando una metodología similar y utilizando el chip construido por Affymetrix (citado previamente) encontraron expresión diferencial en 89 de los 6.000 genes entre las muestras procedentes de pacientes esquizofrénicos y los controles. Dentro de estos genes, destacar los relacionados con los procesos de mielinización neuronal, desarrollo, plasticidad sináptica, neurotransmisión y transducción de señal (Hakak et al., 2001). El resultado más importante de este trabajo fue la menor expresión de 5 genes, que suelen expresarse en los oligodendrocitos, células implicadas en la formación y mantenimiento de las fibras de mielina. Estos autores también observaron una mayor expresión de genes involucrados en las rutas de transducción de señal postsináptica (rutas que están reguladas por la dopamina).

En otro estudio llevado por Vawter y cols. y realizado con muestras de corteza prefrontal (área 9 de Brodmann) y la circunvolución media temporal (área 21 de Brodmann), también de pacientes con esquizofrenia respecto de controles (utilizando chips con 1.128 secuencias génicas), se encontró una expresión diferencial en genes relacionados con la sinapsis, proteólisis, transducción de señal y factores de transcripción (Vawter et al., 2001). En un estudio posterior, estos autores identificaron tres genes cuya expresión estaba disminuida en las muestras procedentes de la corteza prefrontal de los pacientes esquizofrénicos. Tales genes codifican para una proteína de

unión a nucleótidos tipo HINT, la enzima E2N y el receptor ionotrópico del glutamato AMPA2 (Vawter et al., 2002). La posibilidad de microdisecar y capturar células individuales del cerebro post mortem ha hecho posible, además, el análisis transcriptómico de poblaciones celulares clave en la patología de la enfermedad. Hemby y cols. analizaron el patrón de expresión de las células estrelladas de la capa II de la corteza entorrinal obtenida a partir de los cerebros de 8 pacientes esquizofrénicos y 9 controles de la misma edad. Utilizaron dos chips de ADN portadores de 18.240 y 9.710 genes, respectivamente, obteniendo diferencias significativas en los niveles de ARNm de varios receptores acoplados a proteínas G, subunidades GluR y marcadores sinápticos, entre otros (Hemby et al., 2002). Más recientemente, se ha realizado un estudio similar en células endoteliales de la microvasculatura de la corteza prefrontal dorsolateral (área de Brodmann 9) de 12 pacientes esquizofrénicos y 12 controles. Las diferencias más importantes se encontraron en genes relacionados con los procesos inflamatorios, sugiriendo los autores la posibilidad de un estado hipoinflamatorio en este tejido en los pacientes con esquizofrenia (Harris et al., 2008).

Por otro lado, hay que tener presente que puede haber discrepancias entre el nivel de los transcritos analizados y la cantidad de proteína realmente sintetizada. Existe una correlación moderada entre los niveles de proteína y su correspondiente ARNm en una célula (Anderson & Seilhamer, 1997; Gygi, Rochon, Franza, & Aebersold, 1999). Además, muchas proteínas deben ser modificadas postraduccionalmente para ser funcionales, como, por ejemplo, ser fosforiladas (adición de grupos fosfatos) o glucosiladas (adición de moléculas de azúcar). Otras se asocian y forman grandes complejos proteicos. Estos cambios no se detectan al analizar el transcriptoma con chips de ADN, por lo que ha sido necesario implementar estrategias de análisis de proteínas (proteómica).

#### **A.7.b) Proteómica**

El análisis a gran escala de un elevado número de proteínas de forma simultánea es lo que se conoce como “proteómica”. Aunque dicho análisis puede incluir el conjunto de proteínas codificadas por un genoma (el proteoma), suele hacer referencia a subconjuntos específicos de proteínas sintetizadas por un tejido concreto en un momento y condiciones específicas. En el caso de las proteínas que se expresan en el sistema nervioso central se utiliza el término “neurómica” o “neuroproteómica”. La

aplicación de la tecnología proteómica en la investigación de las enfermedades neurológicas es relativamente reciente.

Como vemos, el análisis proteómico consta de dos pasos: 1) la separación de las proteínas de una muestra en fracciones más simples que contienen menor número de componentes, 2) la identificación de tales proteínas mediante métodos analíticos, entre los que destaca la espectrometría de masas. La separación de las proteínas suele llevarse a cabo mediante electroforesis en dos dimensiones o cromatografía líquida multidimensional. En el primer caso, el conjunto de proteínas extraídas de dos muestras complejas, la muestra control y la muestra de estudio (pacientes con esquizofrenia), se separa en dos dimensiones basadas en propiedades fisicoquímicas (punto isoeléctrico y masa molecular). El resultado es un conjunto de manchas, cada una de las cuales puede representar una sola proteína si la resolución es elevada. De forma rutinaria, es posible separar entre 3.000 y 10.000 manchas proteicas, así como detectar proteínas presentes en cantidades de unos pocos centenares de moléculas por célula (Harris et al., 2008). Seguidamente se compara el nivel de expresión de cada proteína de forma relativa entre las dos muestras, y se caracterizan e identifican aquellas proteínas que presentan intensidades diferentes (indicativo de diferencias en su cantidad). Para realizar estos análisis se requiere un software de reconocimiento de imágenes (de las proteínas separadas) acoplado a un robot que captura la proteína de interés. Su identificación se lleva a cabo mediante el método MALDI-TOF-MS (matrix-assisted laser desorption ionization —time-of-flight— mass spectrometry), que es el método más eficiente de identificación de proteínas utilizado en los análisis proteómicos (Lahm & Langen, 2000). La proteína de interés es fragmentada en sus componentes peptídicos mediante proteasas y se determina, de forma precisa, la masa molecular de cada uno de los péptidos que se han generado. El conjunto de valores de masa molecular obtenido para una mancha proteica se compara (in silico: hecho por computadora o vía simulación computacional) con las masas peptídicas esperadas para las proteínas presentes en las bases de datos. Con la finalización del Proyecto Genoma Humano se ha facilitado enormemente la identificación de las proteínas que muestran expresión diferencial en los análisis de proteómica, porque durante el desarrollo de este proyecto se han ido generando extensas bases de datos de los genes y proteínas por ellos codificados. Incluso es posible determinar las propiedades de una proteína nueva atendiendo a su

homología con dominios proteicos de función conocida presentes en estas bases de datos.

Recordar que una de las principales ventajas de las técnicas proteómicas en comparación con las técnicas genómicas es la capacidad de ir más allá del puro análisis basado en la expresión génica (Castegna et al., 2002). Las células necesitan modificar de forma dinámica el estado funcional de las proteínas, así como regular su síntesis y degradación, tanto bajo condiciones normales como en respuesta a los efectos del ambiente o de alteraciones celulares. Por lo tanto, el proteoma refleja más exactamente el fenotipo de un individuo y su carácter dinámico puede ser la clave para comprender la compleja contribución del ambiente en el desarrollo de la enfermedad. No obstante, también hay que citar las limitaciones que presenta actualmente esta tecnología, como es la mayor dificultad en la identificación de ciertos tipos de proteínas, proteínas poco abundantes o proteínas hidrofóbicas presentes en las membranas celulares y de orgánulos.

En las enfermedades neuropsiquiátricas la elección de la muestra que se va a investigar es bastante limitada, ya que el cerebro sólo puede ser analizado post mortem. La región cerebral clave, para el caso de la esquizofrenia, ha sido la corteza prefrontal, especialmente la corteza entorrinal, el sistema límbico, y el estriado (candado y putamen), así como el hipocampo. También se han considerado los fluidos corporales como la sangre y el líquido cefalorraquídeo (LCR), fáciles de acceder. El LCR puede reflejar las alteraciones patológicas del cerebro, ya que está en contacto con este órgano, aunque presenta la limitación de tener una menor concentración proteica.

Los resultados obtenidos en los distintos estudios aplicando los chips de ADN y las técnicas proteómicas no son totalmente concordantes. Las diferencias pueden ser debidas a las propias limitaciones del método empleado, como la menor sensibilidad para los genes con un bajo nivel de expresión. Pero sobre todo puede influir la heterogeneidad de los sujetos de estudio (edad, sexo, tratamiento). Cabe la duda de que algunas diferencias entre los pacientes y los controles tengan su origen en la medicación de los primeros y no sean debidas a la enfermedad per se. Otras limitaciones son el pequeño tamaño de la muestra, las diferencias en las regiones cerebrales analizadas en los diferentes estudios, el tiempo que transcurre desde la recogida del tejido cerebral post mortem y su mantenimiento (el intervalo post mortem), ya que la degradación de

las proteínas comienza tras la muerte del individuo, etc. También destacar la heterogeneidad de los chips utilizados y los artefactos que pueden generarse al aplicar los métodos proteómicos, A pesar de todo, no cabe duda de que la aplicación de las técnicas “ómicas” ha dado un gran impulso a la investigación de las ciencias biomédicas en general y de la neurociencia en particular. Estas técnicas permiten avanzar en el estudio molecular de la fisiología del sistema nervioso en condiciones normales y en situaciones de enfermedad, como en el caso de la esquizofrenia. Con ellas es posible analizar un gran número de muestras de pacientes y controles en un solo experimento, requisito necesario para dar validez estadística a los resultados obtenidos, que tendrán que ser validados aplicando otras técnicas. Uno de los retos actuales de ambas técnicas es poder proporcionar una explicación biológica plausible a la enorme cantidad de datos que se generan en un experimento y así comprender la expresión orquestada de centenares de genes que participan en el desarrollo de una enfermedad multigénica. Esto será posible a medida que aumente nuestro conocimiento sobre la función de los genes todavía no bien caracterizados y la interacción de los distintos componentes celulares que participan en la regulación de la expresión génica. Las técnicas ómicas están todavía en fase de desarrollo, con miras a mejorar las técnicas analíticas preexistentes y la creación de otras más eficientes. Su potencial se pone de manifiesto por la posibilidad que ofrecen de identificar diferencias en la expresión de proteínas que puedan utilizarse como biomarcadores de la enfermedad, de su inicio y progresión, y de la respuesta frente al tratamiento; así como de aquellas características que son específicas de determinados subgrupos de pacientes; de identificar las rutas de patogénesis involucradas, así como nuevas dianas sobre las que desarrollar estrategias terapéuticas. Todo ello es de una gran importancia para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las enfermedades psiquiátricas complejas, como es el caso de la esquizofrenia.

Valorando los intentos de obtención de patrones proteicos en la esquizofrenia, uno de los primeros implicó una serie de investigaciones del mismo grupo utilizando muestras procedentes del hipocampo (Edgar et al., 1999; Edgar et al., 2000). A partir de 7 controles y 7 pacientes con esquizofrenia identificaron unas 500 manchas proteicas. Entre ellas, 18 presentaban concentraciones significativamente diferentes en los pacientes que en los controles. Tres de estas proteínas son codificadas por genes localizados en 6q: el inhibidor de unión al diazepam, la superóxido dismutasa dependiente de Mn y la proteína 1 del complejo T. Otros autores han analizado el

contenido proteico del LCR de pacientes esquizofrénicos, encontrando que los niveles de apolipoproteína A4 estaban disminuidos (Jiang et al., 2003). Prabakaran y cols. identificaron un conjunto de proteínas cuyos niveles estaban alterados en muestras de corteza prefrontal (área de Brodmann 9) de los pacientes con esquizofrenia (Prabakaran et al., 2004). Estas proteínas están involucradas en diferentes procesos biológicos, como la formación del citoesqueleto, el plegamiento de las proteínas, la transducción de la señal y la defensa antioxidante, entre otras. La mayoría son proteínas de localización citosólica o mitocondrial y algunas también aparecen alteradas en otros trastornos psiquiátricos, como el trastorno bipolar, y en enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer (Fountoulakis & Kossida, 2006). Más recientemente se ha analizado el plasma sanguíneo de pacientes esquizofrénicos y voluntarios sanos, encontrando en la fase aguda de la enfermedad una mayor cantidad de cuatro proteínas, la cadena  $\alpha$  Hp, la antitripsina  $\alpha_1$ , el componente P amiloide y la macroglobulina  $\alpha_1$  (Wan et al., 2007). Este mismo grupo también analizó muestras de LCR, identificando niveles disminuidos de apolipoproteína E y transtirretina en los pacientes con esquizofrenia tratados farmacológicamente (Wan et al., 2006). Otros autores han partido de muestras de hígado y de células sanguíneas, obteniendo unos resultados que han apoyado la hipótesis de la posible implicación del estrés oxidativo en la esquizofrenia (Prabakaran et al., 2007). Aplicando una modificación del método MALDI en el análisis de muestras de LCR de pacientes esquizofrénicos (de tipo paranoide) con primeros episodios y sin tratar farmacológicamente, se ha identificado la proteína VGF y la transtirretina como posibles biomarcadores (Huang et al., 2006). Como consecuencia de los resultados de todos estos estudios, se ha sugerido la posible implicación de una serie de proteínas en la esquizofrenia, que se han asociado por primera vez a esta enfermedad.

#### **A.8) La neurona. Concepto**

Las neuronas son un tipo de células del sistema nervioso cuya principal función es la excitabilidad eléctrica de su membrana plasmática. Están especializadas en la recepción de estímulos y conducción del impulso nervioso (en forma de potencial de acción) entre ellas o con otros tipos celulares. La mayoría de las neuronas no se dividen una vez alcanzada su madurez, ya que están muy diferenciadas (Bear, Press, & Connors, 1992).

Las neuronas están conectadas entre ellas formando circuitos neuronales. Cada neurona recibe impulsos nerviosos por sus dendritas, que son las prolongaciones ramificadas que salen de su cuerpo. Cuando la activación es suficiente, la neurona descarga a su vez un impulso nervioso que viaja desde su cuerpo hacia abajo por el axón, hasta llegar a su extremidad ramificada o telodendrona. El axón de la neurona es la prolongación larga que transmite la excitación neuronal y que permite enviar la información nerviosa a otras neuronas.

El cuerpo y el axón de la neurona están recubiertos de unas células de soporte llamadas células glias. Estas células protegen a la neurona y le proporcionan soporte físico, además de intercambiar sustancias con ella. Las células glias que recubren los nervios se llaman 'células de Schwann' y forman unas vainas que están rellenas de mielina, una sustancia grasa que hace de aislante y permite que los impulsos nerviosos circulen mejor por el axón (Paniagua et al., 2002).

Cuando un impulso nervioso llega hasta el final del axón (el telodendrona), provoca que se segreguen neurotransmisores. Los neurotransmisores son las sustancias químicas que permiten transmitir la excitación nerviosa de una neurona a otra, a través de las sinapsis.

## **A.9) La sinapsis**

### **A.9.a) Concepto**

Las sinapsis son uniones intercelulares asimétricas especializadas y encargadas en transferir información de una neurona a la célula diana, generalmente otra neurona, mediante una señal eléctrica o química. Una sinapsis es la pequeñísima separación que hay en la zona de contacto entre la telodendrona de la neurona emisora y la dendrita de la neurona receptora, espacio en el que se segregan y trasladan los neurotransmisores.

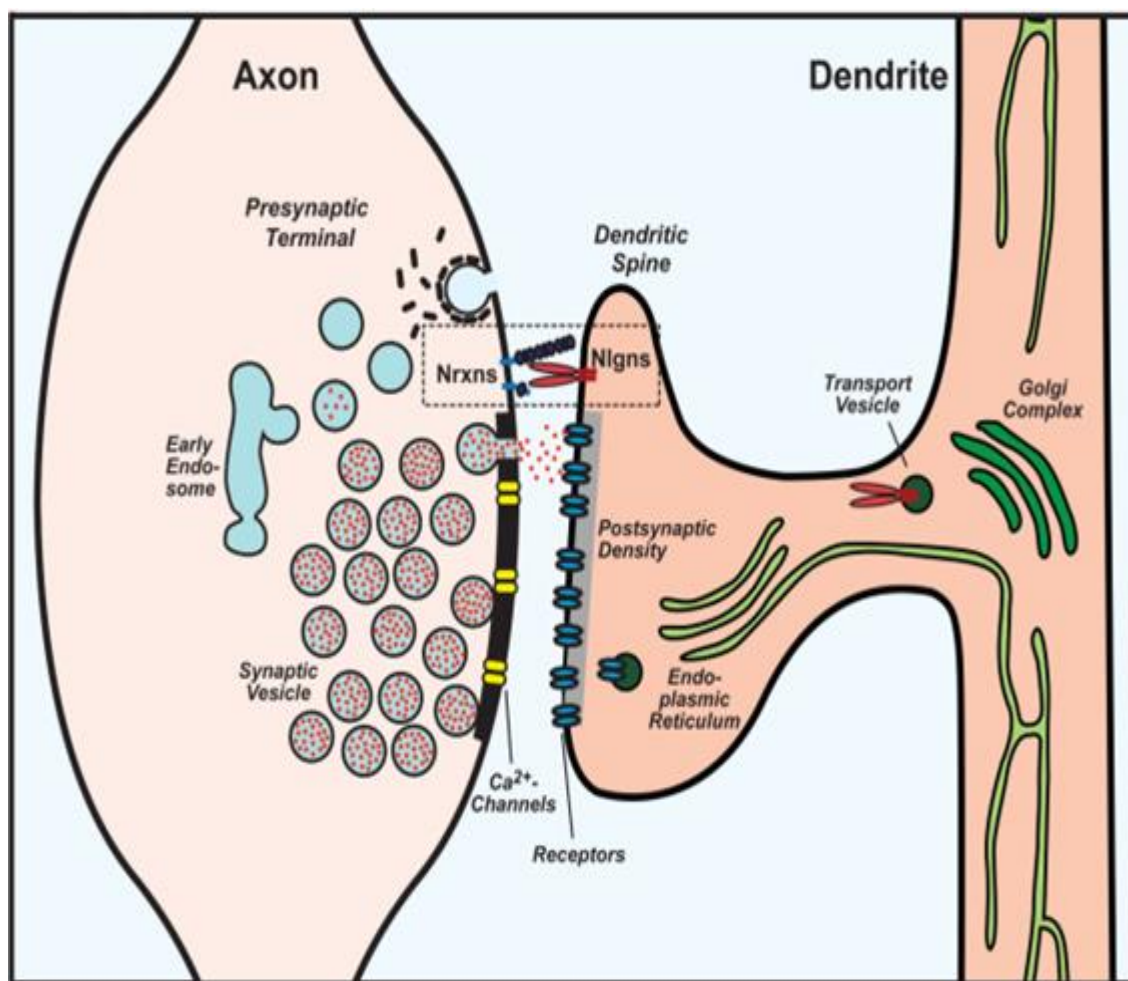
La transmisión de información sináptica es rápida, dinámica y eficiente, y está estrechamente regulado. Las cascadas sinápticas unidas por circuitos neuronales superpuestos, transforman los estímulos sensoriales y generan señales de salidas motoras en el cerebro (Cowan, Südhof, Stevens, & & editors, 2000). La adecuada función sináptica es un requisito esencial para todo el procesamiento neuronal,



incluyendo las altas funciones cognitivas, como la memoria y el aprendizaje (Petzoldt & Sigrist, 2014).

En el modo de la sinapsis clásica, la terminal presináptica que contiene abundantes vesículas sinápticas contacta con la neurona postsináptica. Cuando el potencial de acción invade el terminal presináptico, los canales de calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) dependientes de voltaje se abren y el flujo de los disparadores de calcio fusiona las vesículas sinápticas con la membrana plasmática presináptica. De este modo, se produce el vaciado de los neurotransmisores contenidos en las vesículas de la hendidura sináptica (Sudhof, 2004). Posteriormente, los neurotransmisores reaccionan con los receptores postsinápticos para completar la transferencia de información. Todo este proceso descrito, es muy rápido donde cada uno de los pasos importantes (fusión de las vesículas sinápticas de la presinapsis, recepción de la señal postsináptica) tiene lugar en < 1 milisegundo (ms).

Existen otros tipos de señalización sináptica que operan con un período de tiempo más lento y sirven también para regular la transmisión sináptica. Estructuralmente, las sinapsis ocurren en las capas que recubren la cara intracelular de la membrana plasmática presináptica (referido a la zona activa ya que las vesículas sinápticas se fusionan aquí) y la membrana plasmática postsináptica (referido al espesor postsináptico). Tanto la membrana plasmática presináptica como la postsináptica, están siempre alineadas de una forma precisa, y están separadas por una hendidura sináptica de unos 20 nanómetros (nm). La hendidura contiene en el medio un material proteináceo, y sirve presumiblemente de puente mediante la adhesión celular sináptica de moléculas como las neurexinas y las neuroliginas, quienes alinean los elementos pre y postsinápticos y median en la señalización transsináptica (Sudhof, 2008). El efecto de la señal transmitida sinápticamente desde una neurona a otra, puede variar enormemente, dependiendo de la actividad reciente de uno o ambos lados de la sinapsis, y estas variaciones pueden oscilar entre ms y meses.



**Figura 2: La sinapsis.**

*Fuente: Sudhof, T. C. (2008). Neuroligins and neurexins link synaptic function to cognitive disease. Nature, 455, 903-911.*

### A.9.b) Estructura

El lugar donde ocurre la fusión sináptica de las vesículas y la liberación de neurotransmisores se conoce como “zona activa”. Estas zonas activas primero fueron descritas y exploradas por microscopía electrónica debido a su pequeño tamaño (máximo 300 nm). Las estructuras electrodensas que decoran las zonas activas fueron observadas y después identificadas como matrices de proteínas en andamio. Se ha sugerido que estas matrices proporcionan sitios de atraque y fijación para las vesículas sinápticas con el fin de facilitar el ciclo de la sinapsis vesicular, el cual es coordinado por el ciclo de la exocitosis y endocitosis de las vesículas sinápticas envueltas en la liberación de neurotransmisores. Por otro lado, las zonas activas exhiben una arquitectura diversa, tanto entre especies como sinapsis, involucrando a diferentes tipos de neuronas (Petzoldt & Sigrist, 2014).

Para el funcionamiento del circuito neuronal, la formación y especificación de la sinapsis son imprescindibles. Las propiedades de entrada y salida del circuito neuronal dependen del patrón de conectividad sináptica y de la variedad de características de las sinapsis individuales que se dan en él (Abbott & Regehr, 2004). El patrón de conectividad en un circuito no es más importante que las propiedades de las sinapsis individuales que comprenden el circuito.

La formación de sinapsis y la especificación de la diversidad de sinapsis están intrincadamente relacionadas, y probablemente dependen de la acción de las moléculas de adhesión celular (Dityatev, El-Husseini, & & editors, 2006). La diversidad de sinapsis se debe en parte a diferencias en la composición de su liberación y maquinaria receptorial, pero parece basado en gran medida en las diferencias de la organización de dicha maquinaria. La formación y especificación de las sinapsis probablemente envuelve tres pasos: 1) reconocimiento inicial de la célula diana por el cono de crecimiento neuronal, 2) formación de las uniones sinápticas con el enganche de los componentes sinápticos, 3) maduración de las funciones sinápticas con la especificación de las propiedades propias del circuito.

### **A.9.c) Funcionalidad**

Los ensayos funcionales sobre la formación de sinapsis y las pruebas de moléculas específicas son difíciles de aplicar, obstaculizando la identificación de los mecanismos moleculares implicados. Dichas dificultades se confunden con el hecho de que muchas moléculas candidatas (como las cadherinas) tienen una función esencial durante el desarrollo temprano, además de su presunto rol en la formación de la sinapsis (Arikkath & Reichardt, 2008; Salinas & Zou, 2008).

Ensayos artificiales de la formación sináptica, con co-cultivo de neuronas con células no neuronales, expresan moléculas de adhesión celular. El ensayo trata de valorar cómo la molécula de adhesión celular induce a las neuronas a formar enlaces estables, mediante propiedades similares a las sinápticas, con las células no neuronales. Como resultado se obtiene la activación de varias moléculas (Chubykin et al., 2005; Graf, Zhang, Jin, Linhoff, & Craig, 2004).

A esto hay que añadir los ensayos de transfección neuronal (*transfección: introducción de material genético externo en células eucariotas mediante plásmidos*,

*vectores víricos u otras herramientas para la transferencia*), los cuales usan neuronas que sobreexpresan la molécula de adhesión celular y miden la densidad de neuronas transfectadas mediante microscopía (Chih, Gollan, & Scheiffele, 2006), y la función sináptica mediante electrofisiología (Chubykin et al., 2007). Los resultados de estos ensayos muestran un mejor análisis funcional de los efectos de la molécula de adhesión que los ensayos de formación sináptica artificial, pero ninguno de ellos mide directamente la función sináptica, por lo que ambos ensayos son subsidiarios de estar artefactados.

Como hemos visto, las neuronas forman patrones de conectividad sináptica altamente específicos y complejos y que subyacen a toda la función cerebral (Bargmann & Marder, 2013; Meinertzhagen & Lee, 2012; Van Essen, 2013). Cada conexión específica requiere trillones de sinapsis químicamente diferenciadas, y cuya identidad puede estar conformada por las interacciones específicas de las moléculas de señalización pre y postsinápticas, especialmente las moléculas de adhesión celular. El tamaño del genoma es insuficiente para codificar tal diversidad, pero una mezcla de patrones de expresión combinados, que enlazan diferentes moléculas de adhesión celular sináptica con la otra, y un patrón diferenciado y alternativo de enlace genético que amplifica el número de moléculas de adhesión celular a un largo número de isoformas, puede generar el número de interacciones transinápticas necesarias para establecer la enorme diversidad de conexiones sinápticas.

En la *Drosophila melanogaster* (mosca del vinagre), el empalme alternativo (empalme alternativo: permite obtener a partir de un transcrito primario de mRNA o pre-ARNm distintas moléculas de mRNA maduras) de los mRNAs que codifican la molécula de adhesión celular del síndrome de Down, pueden generar cerca de 20.000 isoformas proteicas que estructuran la agrupación axonal pero no la formación sináptica (Hattori et al., 2009). En mamíferos, el empalme alternativo de neurexinas y algunas protocadherinas de mRNAs pueden también producir miles de isoformas, las cuales quizá como en el caso de las neurexinas, pueden estar involucradas en la formación de la sinapsis (Aoto, Martinelli, Malenka, Tabuchi, & Sudhof, 2013; Wu & Maniatis, 1999).

## A.10) Las neurexinas

### A.10.a) Concepto

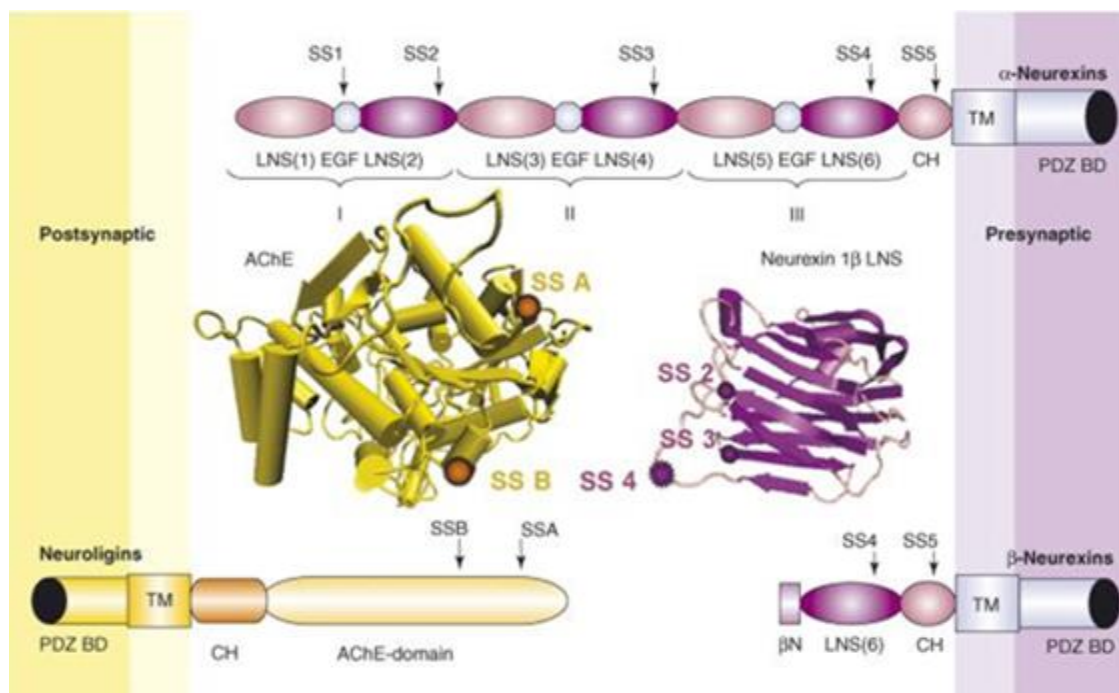
Las neurexinas, por tanto, son proteínas de superficie de adhesión celular con importancia en el desarrollo y mantenimiento de las sinapsis. Se les descubrió como proteínas de membrana tipo I, con la función de receptores presinápticos de la  $\alpha$ -latrotoxina (Ushkaryov, Petrenko, Geppert, & Sudhof, 1992; Ushkaryov & Sudhof, 1993). En el genoma humano hay tres genes de Neurexina (*NRXN1-3*) que, debido a promotores alternativos independientes (a y b; neurexina-a larga y neurexina-b corta) y el extenso empalme alternativo, pueden potencialmente formar más de 2000 isoformas que son expresadas diferenciadamente en el cerebro (Rowen et al., 2002; Ullrich, Ushkaryov, & Sudhof, 1995). De esta forma, se han sintetizado seis neurexinas principales (*Nrxn1 $\alpha$ -3 $\alpha$*  and *Nrxn1 $\beta$ -3 $\beta$* ). Todos los mRNAs de las neurexinas están enlazados alternativamente y de forma extendida (Ullrich et al., 1995; Ushkaryov et al., 1992; Ushkaryov & Sudhof, 1993).

### A.10.b) Estructura

El gen *NRXN1* abarca 1.1Mb en el cromosoma 2p16.3 e incluye, al menos, 24 exones (Rowen et al., 2002). Las distintas isoformas proteínicas de las neurexinas comparten el mismo dominio transmembrana C-terminal y una cola corta citoplásmica. Dichas isoformas de las neurexinas ( $\alpha$  y  $\beta$ ), difieren en la porción extracelular, que en el caso de las neurexinas  $\alpha$  consiste en tres repeticiones que se da en toda neurexina: seis dominios de laminina/nectina/hormona sexual de unión a globulina (LNS)-factor epidérmico del crecimiento (EGF)-dominios de LNS. En el caso de las neurexinas  $\beta$ , sólo hay un dominio simple LNS. Dichos dominios extracelulares son los responsables del enlace con las neurexinas (Sudhof, 2008).

Las distintas isoformas interactúan con otras proteínas de forma diferenciada, y su expresión está controlada espacial y temporalmente en el cerebro dependiendo de la despolarización neuronal (Boucard, Chubykin, Comoletti, Taylor, & Sudhof, 2005; Iijima et al., 2011; Siddiqui, Pancaroglu, Kang, Rooyakkers, & Craig, 2010; Ullrich et al., 1995). Debido a su rol en la señalización, se piensa que las neurexinas tienen un papel fundamental en la habilidad de procesamiento de información cerebral.

Las secuencias extracelulares de las neurexinas  $\beta$  empalman con los seis dominios de LNS de las neurexinas  $\alpha$ , contando con que el hecho de que las neurexinas  $\beta$  sean idénticas a las neurexinas  $\alpha$  (Ushkaryov et al., 1994). Todas las neurexinas  $\alpha$  están sujetas a empalmes alternativos en cinco sitios canónicos (SS#1–SS#5) (Ullrich et al., 1995), de los que SS#4 y SS#5 también se han encontrado en las neurexinas  $\beta$ . Las secuencias alternativas de SS#1–SS#4 están homologadas entre las tres neurexinas, mientras que las de SS#5 se diferencian. Aquí, la secuencia variable en *NRXN1* abarca solo 3 residuos, mientras que en la *NRXN2* se compone de 194 residuos, y en la *NRXN3* se observa una gran variedad de secuencias de empalme alternativo que incluyen inserciones de 247 residuos y secuencias con codones de parada, generando como efecto la secreción de isoformas de *NRXN3* (Ullrich et al., 1995; Ushkaryov & Sudhof, 1993). El empalme alternativo de las neurexinas está regulado de forma diferenciada en las distintas partes del cerebro (Aoto et al., 2013), exhibiendo un ciclo diurno (Shapiro-Reznik, Jilg, Lerner, Earnest, & Zisapel, 2012), y siendo modulado por la actividad neuronal, de desarrollo y de las neurotrofinas (Iijima et al., 2011).



**Figura 3: Estructura de las neurexinas.**

*Fuente: Craig, A. M. & Kang, Y. (2007). Neurexin-neuroigin signaling in synapse development. Current Opinion in Neurobiology, 17, 43-52.*

El C-terminal de la sección corta intracelular de ambos tipos de neurexinas se une a la sinaptotagmina y al PDZ [densidad postsináptica (PSD)-95/disco largo/zona

occludens 1] dominios del CASK y el Mint. Estas interacciones forman conexiones entre las vesículas sinápticas intracelulares y las proteínas de fusión (Craig & Kang, 2007). Estas neurexinas juegan un papel muy importante en el ensamblaje de la maquinaria presináptica y postsináptica.

En la transinapsis, los dominios extracelulares LNS tienen una región funcional, conocida como la superficie hipervariable, formada por los tres bucles que llevan de corte y empalme. Esta región rodea de forma coordinada al ion  $\text{Ca}^{+2}$  y es el lugar de unión de la neurogilina, dando como resultado al complejo neurexina-neurogilina dependiente de  $\text{Ca}^{+2}$  propio de la unión de la sinapsis química (Craig & Kang, 2007).

### **A.10.c) Expresión**

Las hibridaciones in situ han demostrado que diferentes neurexinas  $\alpha$  y  $\beta$  se coexpresan en el mismo tipo de neuronas, pero que cada tipo de neurexinas es distribuido diferenciadamente entre los diferentes tipos de neuronas (Ullrich et al., 1995). Estudios de inmunofluorescencia, fraccionamiento subcelular y la función de las neurexinas (como los receptores de latrotoxina  $\alpha$ ), indican que las neurexinas están localizadas en las terminales presinápticas (Chubykin et al., 2005; Sugita, Khvochtev, & Sudhof, 1999; Ushkaryov et al., 1992). La localización exacta de las neurexinas todavía no está clarificada, sin embargo, las deleciones de las neurexinas  $\alpha$  tienen efectos postsinápticos (Kattenstroth, Tantalaki, Sudhof, Gottmann, & Missler, 2004), y las neurexinas están parcialmente presentes en lugares postsinápticos (Taniguchi et al., 2007).

### **A.11) Las neurogilinas. Ligandos de las neurexinas**

Las neurogilinas se identificaron como ligandos endógenos de las neurexinas (Ichtchenko et al., 1995). Son proteínas de membrana tipo I, como las neurexinas, pero exhiben un dominio estructural simple y menos diversidad. Además de las neurogilinas, las neurexofilinas (proteínas neuropéptidas) y los distroglicanos (célula de adhesión celular involucrada en muchos tipos de uniones distintas), también son ligandos de las neurexinas (Petrenko et al., 1996; Sugita et al., 2001). Sin embargo, a diferencia de las neurogilinas, no se han objetivado efectos funcionales de las uniones de las neurexofilinas y distroglicanos a las neurexinas.

## A.12) Complejo neurexina/neurogilina transináptico. Estructura

Se ha planteado que las neurexinas y las neurogilinas forman un complejo transináptico, recubierto por ambas caras por el dominio PDZ, que contiene proteínas. La estructura cristalina del complejo neurexina 1/neurogilina 1, muestra que los dominios LNS de la neurexina se unen mediante un área de contacto larga con la parte lateral de la estereasa del dominio homólogo de la Neurogilina, cuya posición es la opuesta del sitio activo no validado (Chen, Liu, Shim, Focia, & He, 2008). Se observa que en la estructura de los cristales que crecieron en presencia de  $\text{Ca}^{+2}$ , dos sitios de unión, totalmente ocupados por  $\text{Ca}^{+2}$ , estaban coordinados por ligandos de ambas proteínas (Arac et al., 2007).

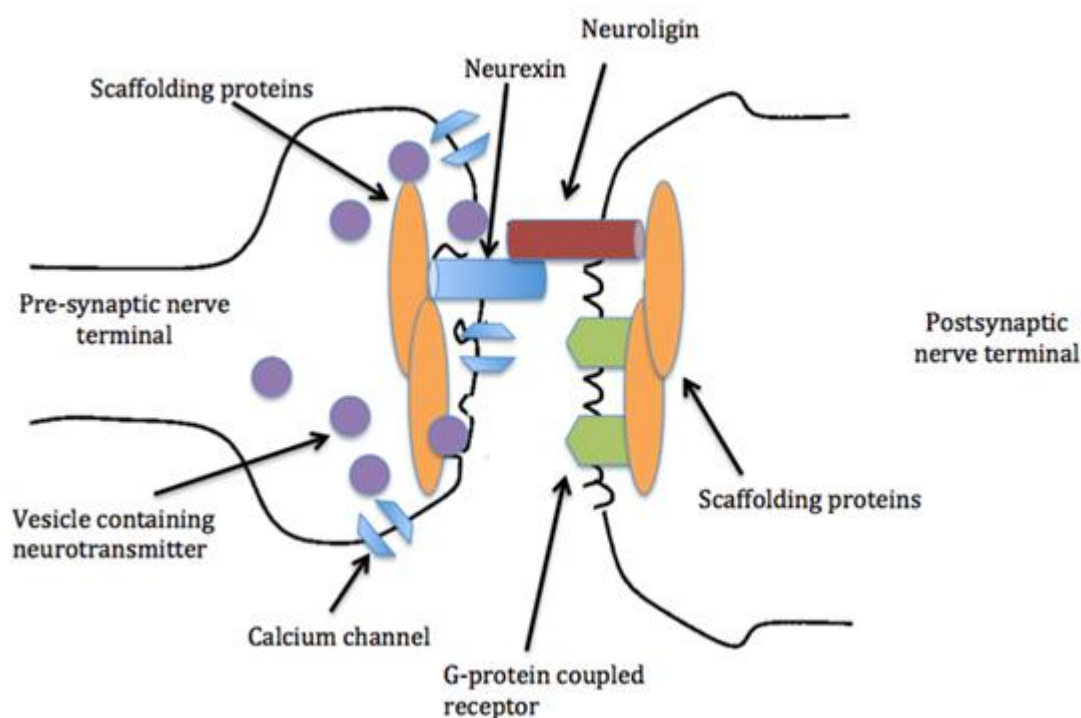
La forma del complejo neurexina/neurogilina sugiere que lleva a cabo una interacción por capas en el centro de la hendidura sináptica, con las secuencias C-terminales que emergen del complejo desde direcciones opuestas. Esta interacción por capas, que puede contribuir al material electrodensito observado en la hendidura sináptica mediante microscopía electrónica, está separada de las membranas plasmáticas pre y postsinápticas mediante las secuencias de unión glicosiladas presentes en las neurexinas y neurogilinas, justo fuera de su membrana. Estas secuencias glicosiladas podrían servir como “punto de regreso” generando una distancia espacial entre la interacción por capas y las membranas plasmáticas, y forzando a los dominios extracelulares a la protección desde la hendidura sináptica y fuera de la membrana (Sudhof, 2008).

Las diferentes combinaciones de neurexinas con neurogilinas y el empalme alternativo de los genes de ambos, controlan la unión entre neurogilinas y neurexinas, otorgando especificidad a la sinapsis (Dean & Dresbach, 2006). Las neurexinas por sí solas son capaces de reclutar neurogilinas, en las células postsinápticas, hacia la superficie dendrítica, dando como resultado a agrupaciones de receptores de neurotransmisores, proteínas postsinápticas y otra maquinaria. Las neurogilinas homólogas pueden inducir terminales presinápticas reclutando neurexinas. Por lo tanto, la formación de sinapsis puede ser activada en cualquier dirección por estas proteínas (Craig & Kang, 2007). Las neurexinas y las neurogilinas pueden regular la formación de sinapsis glutamatérgicas (excitatorias) y los contactos GABAérgicos (inhibitorios), mediante el enlace de la neurogilina. Se ha sugerido que mediante la regulación del



enlace neurexina-neurogolina se podría equilibrar la entrada sináptica o mantener un ratio óptimo de contactos excitatorios e inhibitorios (Binder, 2009).

Las neurexinas presinápticas forman un complejo transináptico calcio-dependiente en el sistema nervioso central mediante la unión a la neurogolina del ligando postsináptica, proteínas neuronales transmembrana con repetición rica en leucina (LRRTMs), y el receptor glutamatérgico delta 2 (GluRd2) (Boucard et al., 2005; Siddiqui et al., 2010).



**Figura 4: Diálogo transináptico.**

*Fuente: Autor Rachelbash1/Sandbox.*

### **A.13) Neurexinas. Función**

Las actividades de las neurexinas han sido difíciles de caracterizar. La falta de anticuerpos de alta afinidad, la complejidad de las isoformas de las neurexinas y los cambios en la función presináptica analizada han contribuido a dicha dificultad. Hasta la fecha, parece todavía poco certero afirmar que las neurexinas son exclusivamente presinápticas o negar el hecho de al menos algunas neurexinas puedan ser postsinápticas. Los análisis de ratones knockout (*KO: modificados genéticamente para que uno o más de sus genes estén inactivados mediante una técnica llamada gene knockout*) en los que valoran el efecto de deleciones individuales de neurexinas  $\alpha$ , sólo

obtienen un moderado incremento de la mortalidad en el ratón, pero las deleciones de dos o tres neurexinas  $\alpha$ , incrementan de forma dramática, la mortalidad postnatal y las deleciones de las tres neurexinas  $\alpha$ , conllevan a una fatalidad invariable en el ratón neoatal. Por otra parte, el número de sinapsis y su ultraestructura es relativamente normal en el ratón KO para la neurexina  $\alpha$ , pero la función sináptica está severamente dañada. Este daño es, tanto presináptico como postsináptico, pero se manifiesta de forma más marcada en el potencial de acción que produce la neurotransmisión de liberación, la cual se ve severamente deprimida, en gran parte debido a la pérdida de función del canal presináptico  $\text{Ca}^{+2}$  (Zhang et al., 2005).

Postsinápticamente, la deleción en las neurexinas  $\alpha$  causan un descenso en la respuesta de los receptores sinápticos dependientes de NMDA (ácido N-metil-D-aspartico), pero no los de AMPA (ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico) (Kattenstroth et al., 2004). El análisis de todos los resultados en ratones KO para la neurexina  $\alpha$  indican que la deleción de la neurexina  $\alpha$  desorganiza las sinapsis. Estos hallazgos caracterizan a las neurexinas  $\alpha$  como moléculas de adhesión celular esenciales para un correcto ensamblaje de la sinapsis en una unidad funcional total, y no sólo para la formación inicial de la sinapsis.

A todo esto hay que añadir, que se aprecia que las neurexinas también son necesarias para la organización de los sistemas secretores, a partir de los hallazgos expuestos por el ratón KO para la neurexina  $\alpha$  con un cambio adicional e importante en las neuronas neuroendocrinas (Dudanova et al., 2006). Por tanto, la disfunción de las neurexinas deteriora las propiedades de la sinapsis y daña la comunicación neuronal sin abolir completamente la transmisión sináptica.

## B. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

---

## **B. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

### **B.1) Neurexinas y Trastornos del espectro psicótico (TEP)**

La esquizofrenia es el trastorno psicótico más estudiado. Se caracteriza por importantes alteraciones con repercusión aguda en el funcionamiento social. Afecta aproximadamente al 1% de la población mundial y supone entorno el 2,5% del gasto mundial en salud (Meltzer, 1999).

La conectividad sináptica aberrante es una característica de la neuropatología de la esquizofrenia (Stephan, Baldeweg, & Friston, 2006). Por otro lado, está documentado que tanto las deleciones parciales heterocigotas, como otras mutaciones y disrupciones del gen *NRXN1* (como el área promotora o las regiones de codificación N-terminal de la neurexina 1 $\alpha$ ) están asociadas con la susceptibilidad para desórdenes neurocognitivos, como la esquizofrenia (Duong et al., 2012; Guilmatre et al., 2009; Rujescu et al., 2009; Walsh et al., 2008).

El equipo de Kirov y sus colegas hallaron una deleción del gen *NRXN1* en la región 2p16.3 de una madre y dos hermanos afectados de la misma familia, así como en dos gemelos idénticos concordantes para la esquizofrenia de aparición infantil (Kirov et al., 2008).

En el estudio llevado a cabo por Yue con una población china, investigaron la posible asociación entre los polimorfismos del *NRXN1* y la esquizofrenia usando una muestra de 768 casos y 738 controles sanos. Como resultado del estudio obtuvieron que tres haplotipos (haplotipo: combinación de alelos de diferentes loci de un cromosoma que son transmitidos juntos, pudiendo ser un locus, varios loci, o un cromosoma entero dependiendo del número de eventos de recombinación que han ocurrido entre un conjunto dado de loci; también entendido como un conjunto de polimorfismo de un solo nucleótido [SNPs] en un cromosoma particular que están estadísticamente asociados) estaban asociados a la esquizofrenia.

Rujescu y sus colegas llevaron a cabo un análisis de chips de ADN (microarray) en 2.977 pacientes europeos afectos de esquizofrenia y 33.746 controles europeos e identificaron 66 deleciones y 5 duplicaciones en el gen del *NRXN1*: 12 deleciones y 2 duplicaciones en los pacientes con esquizofrenia (0,47%) comparados con las 49 deleciones y 3 duplicaciones en los controles (0,15%) (Rujescu et al., 2009). No se

encontró ningún punto de interrupción en común, y los CNVs (Variación en el número de copias: segmento de ADN igual o mayor de 1 kb cuyo número de copias es variable si se compara con un genoma de referencia) variaron desde 18 a 420 Kb (Kilobase: equivalente a 1000 pares de bases de ADN). Cuando restringieron el análisis de asociación a los CNV's que alteraban los exones, identificaron una asociación significativa con una elevada odds ratio (0,24% casos vs 0,015% controles,  $p = 0,0027$ , OR = 8,97). El equipo investigador del artículo sugirió que las deleciones del *NRXN1* que afectan a los exones pueden suponer un riesgo para el desarrollo de la esquizofrenia.

Es importante asumir la complejidad de la esquizofrenia y el espectro psicótico, por lo que probablemente la susceptibilidad de diversos genes está asociada a estas enfermedades. Para poder explicar la asociación de las variantes con los trastornos complejos, recordar (ver apartado A.5.b) que tenemos dos modelos teóricos: el modelo “enfermedad común/variante común” (CDCV) y el modelo “enfermedad común/variante rara” (CDRV) (Psychiatric GWAS Consortium Steering Committee., 2009). El modelo CDCV, sugiere que las variantes genéticas comunes relativas (a menudo  $> 5\%$ ) en la población, deberían conferir un riesgo menor o medio (por ejemplo, OR=1,1-1,5). Por otro lado, el modelo CDRV postula que los rasgos complejos podrían derivar de varias mutaciones raras de los individuos (usualmente  $< 1\%$ ), pero con fuertes efectos relativos (por ejemplo, OR  $> 10$ ).

A todo esto, hay que sumar el hecho de que se ha sugerido la posibilidad de una expresión variable o penetrancia reducida junto a otros factores genéticos o ambientales que pueden influir en el fenotipo expresado de los trastornos neurocognitivos (Dabell et al., 2013). Modelos de ratón han encontrado que la no expresión del *NRXN1a* se ha asociado a una disminución de las sinapsis excitatorias, alteración en la supresión sensoriomotora, aumento en las conductas de aseo, problemas en la construcción del nido y habilidades parentales, sin afectación del aprendizaje, memoria e interacciones sociales (Etherton, Blaiss, Powell, & Sudhof, 2009; Geppert et al., 1998).

Existen diferencias en los hallazgos publicados de la asociación genética del gen *NRXN1* con los trastornos psicóticos, al observarse en diversos estudios que no obtienen diferencias significativas para las alteraciones de dicho gen, entre los grupos con pacientes con esquizofrenia y los grupos control sano (Ikeda et al., 2010; Kirov et

al., 2008; Walsh et al., 2008). A lo mencionado, añadir que los estudios de asociación genética referidos han indagado en las distintas áreas del *NRXNI* (promotora, codificante y no codificante) (Guilmatre, 2009; Todarello, 2014; Vrijenhoek, 2008) y en otros diferentes tipos de variantes genéticas (inserción, delección, duplicación y polimorfismos) (Gauthier, 2011; Levinson, 2012; Shah, 2010; Van Den Bossche, 2012). Las inconsistencias referidas pueden ser resultado de factores múltiples, que precisan ser evaluados sistemáticamente (p.e., poblaciones homogéneas, tipo de polimorfismo genético, individuos emparentados, tamaño de la muestra...), además de analizar qué variantes en concreto del gen *NRXNI* pueden influir realmente en la posible asociación entre dicho gen y los trastornos psicóticos.

## **B.2) Objetivo**

Los objetivos del estudio son:

- 1.- Evaluar la asociación general del gen *NRXNI* y los Trastornos del Espectro Psicótico (TEP);
- 2.- Evaluar la asociación específica de los diferentes tipos de alteraciones (inserción, delección, duplicación y polimorfismos) y las áreas (promotora, codificante y no codificante) del gen *NRXNI*.

## C. METODOLOGÍA

---

## C. METODOLOGÍA

### C.1) Estrategia de búsqueda

Se ha llevado a cabo una búsqueda desde 1980 hasta Diciembre de 2014 (semana 5) en diferentes bases de datos bibliográficas: PubMed/MEDLINE, EMBASE, HuGeNet, GeneCard y WoS usando los términos de búsqueda: “NRXN1” OR “neurexin 1” OR “2p16.3” AND “schizophrenia” OR “psychotic disorder” OR “schizoaffective disorder OR psychosis”.

Las listas de los estudios originales incluidos y de los artículos de revisión fueron revisadas para identificar otros estudios potencialmente seleccionables. Para minimizar el potencial sesgo de publicación, se eliminaron las restricciones relacionadas con el período de tiempo del estudio, el tamaño de la muestra, la población, el lenguaje de la publicación o el tipo de estudio. Se contactó por correo electrónico con los autores de los estudios originales cuando se consideró necesario recabar datos adicionales no incluidos en los estudios.

### C.2) Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión establecidos para la selección de los artículos fueron: 1) estudios observacionales (prospectivos, transversales y de casos y controles); 2) que analicen el gen *NRXN1* en pacientes diagnosticados de TEP (casos); 3) que analicen el gen *NRXN1* en sujetos sanos (controles) sin TEP. El caso se definió por tener, en el momento del estudio, el diagnóstico de los siguientes TEP: esquizofrenia, trastorno psicótico, trastorno esquizoafectivo, psicosis; dicho diagnóstico basado en DSM-III, DSM-III-R, DSM-IV o DSM-IV-TR (Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales) y establecido por un instrumento diagnóstico validado o entrevistas psiquiátricas. La población a estudio consistió en pacientes ambulatorios, pacientes ingresados o tratados en una unidad de rehabilitación en diferentes estados de la enfermedad (primer episodio, fase aguda, período de estabilidad). Los estudios que cumplieron dichos criterios, fueron elegidos en esta revisión sistemática. En este meta-análisis, se incluyeron estudios de cualquier género y grupo étnico. Los resultados de los estudios analizados se clasificaron según el tipo de alteración genética (inserción, delección, duplicación y polimorfismos) y el área afectada (promotora, codificante y no codificante) del gen *NRXN1*.



Los criterios de exclusión fueron: 1) otros diseños de investigación (se excluyeron resúmenes, estudios de caso único, diseños basados en estudios familiares y estudios de población con individuos sanos); 2) otros fenotipos diferentes a los incluidos en el TEP, además de estudios que describieran los efectos genéticos en otros fenotipos con patología mental no mencionada en los criterios de inclusión como son los trastornos de personalidad, trastornos afectivos, trastornos del espectro autista, trastornos del desarrollo, trastornos de la conducta alimentaria, trastornos por abuso y dependencia de sustancias tóxicas o síndromes neurológicos.

Los artículos con muestras de casos o controles duplicadas y, en caso de que se hubieran empleado las mismas muestras en otro artículo ya incluido en el presente meta-análisis, fueron excluidos. También se excluyeron aquellos artículos de los que no se obtuvieron los datos del genotipado necesarios para los análisis tras contactar con los autores, así como aquellos estudios que midieran frecuencias alélicas del gen *NRXNI* en la muestra de casos y controles, en lugar de medir diferentes tipos de alteraciones de dicho gen (es decir, deleciones, inserciones, duplicaciones o variantes).

### **C.3) Extracción de datos**

Dos investigadores (PGM, TBC) revisaron independientemente el título y los resúmenes de los estudios para comprobar los criterios de inclusión. Los artículos completos se obtuvieron desde las bases de datos bibliográficas de Internet cuando fuera posible o contactando con los autores. Primeramente, los títulos y resúmenes de los artículos identificados en la búsqueda fueron revisados de manera independiente. Después, cada autor revisor examinó el texto completo de todos los estudios que ellos consideraron que pudieran tener relevancia. Cada autor revisor compiló una lista de estudios, los cuáles se pensó que cumplían con los criterios de inclusión. La fiabilidad entre observadores se evaluó mediante un análisis de correlación (coeficiente kappa de Cohen interobservador). Los datos de cada uno de los estudio seleccionados tras la aplicación de los criterios de inclusión/exclusión también se extrajeron de forma independiente y a ciegas por los mismos investigadores usando un protocolo (ver Anexo) previamente elaborado de extracción de datos y los introdujeron en bases de datos independientes. Al igual que con los criterios de inclusión/exclusión, tras el análisis de concordancia, en caso de discrepancia se tomó una decisión por consenso

con la implicación de dos investigadores senior (FNM y JSM) en el caso de no alcanzarlo.

En el caso de que varios diagnósticos psiquiátricos se describieran en un estudio, sólo se extrajeron los datos de las muestras con los TEP incluidos en los criterios de inclusión. La unidad de análisis utilizada fueron los estudios para asegurar que los datos no estuvieran duplicados o repetidos, de modo que en el caso de múltiples artículos a partir de un mismo estudio, sólo se incluyeron los resultados de la publicación con el mayor número de participantes.

Se codificaron las siguientes variables (ver Anexo):

1. Autor/es, revista y año de publicación.
2. Métodos (diseño del estudio, tamaño de la muestra en los casos y controles, herramientas diagnósticas para determinar el estado de caso, definición del estado de caso).
3. Características de la muestra (proporciones de género, edad media, antecedentes étnicos, país, estudio de interacción ambiente-gen, inserciones del *NRXNI*, deleciones del *NRXNI*, duplicaciones del *NRXNI*, variantes del *NRXNI*, alteraciones de la región codificante, alteraciones de la región no codificante, alteraciones del área promotora, número de casos afectados, número de controles afectados, número de controles afectados, método de validación [MLPA, qPCR, Affymetrix, DosageMiner, QuantiSNP...]).

#### **C.4) Calidad de los estudios**

La calidad de cada uno de los estudios seleccionados para la inclusión se analizó mediante una lista de comprobación con 12 aspectos metodológicos relevantes. Este listado se obtuvo de diferentes fuentes como la declaración STREGA (Strengthening the Reporting of Genetic Association Studies) (Little et al., 2009) y por lo que se analizó diferentes aspectos (Hirschhorn, Lohmueller, Byrne, & Hirschhorn, 2002; Navarro-Mateu, Escamez, Koenen, Alonso, & Sanchez-Meca, 2013; Sagoo, Little, & Higgins, 2009). Específicamente, los criterios de calidad aplicados fueron:

- 1) Representatividad de los casos (criterios de selección para casos): todos los casos seleccionables con resultados de interés en el período de tiempo definido, todos los casos de una determinada área de selección, todos los casos en un hospital o clínica definida, grupo de hospitales, organización de mantenimiento de la salud, o una muestra apropiada de alguno de estos casos (e.j. muestra aleatorizada). Representatividad de los controles (criterios de selección para controles): si las series de controles usadas en el estudio derivan de la misma población que los casos y podrían haber sido casos si el resultado estuviera presente.
- 3) Diagnóstico de psicosis en los casos y asegurar la ausencia de enfermedad en controles (utilización del mismo instrumento diagnóstico en casos y controles).
- 4) Utilización de las mismas pruebas/escalas en ambos grupos caso y control.
- 5) Valoración de la etnia de los participantes.
- 6) La valoración del genotipado se hace a ciegas del fenotipo y, viceversa, valoración del fenotipo a partir del genotipo: ésta debe ser recogida con el personal de laboratorio ciego a los resultados y a exposiciones ambientales de interés, y si el genotipado de los casos y controles se ha realizado de forma conjunta o separada, se debe informar de qué personas evalúan los resultados y si las exposiciones están cegadas para los resultados del genotipado, la valoración no ciega conduce a una errónea clasificación diferencial.
- 7) Informar de los procedimientos de la calidad de control de los métodos de genotipado: los métodos de control de la calidad incluyen, pero no están limitados, al reanálisis de las muestras aleatorizadas, el análisis de las muestras con diferente método de genotipado, el análisis de las muestras reproducidas, o secuenciación y al análisis de las muestras en un control de calidad central facilitado.
- 8) Se ha realizado la prueba del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE): para un estudio de cohortes, el HWE debería valorarse a toda la población de estudio, mientras que en el estudio de casos y controles, se debería calcular en los controles porque son representativos de la población general. En los estudios de

casos y controles, el HWE se deberá calcular para el grupo control. El fallo observado en el HWE es una forma indirecta para detectar errores de genotipado. Generalmente, los investigadores llevan a cabo pruebas estadísticas para valorar si las frecuencias de genotipo observadas son consistente con el HWE:  $P < 0.05$  es el umbral para confirmar un desequilibrio HWE.

- 9) Se ha tenido en cuenta la estratificación de la población, ya que es considerada como un potencial confusor debido a que las subpoblaciones en la muestra pueden diferir tanto en la prevalencia del genotipo como en el riesgo de enfermedad).
- 10) Se ha tenido en cuenta la existencia de posibles interacciones (interacciones gen-gen y/o ambiente-gen).
- 11) Los análisis se realizan ajustados por potenciales factores de confusión.
- 12) Se realiza un control por comparaciones múltiples: el método más sencillo para corregir el problema de múltiples comparaciones es el método de Bonferroni, en el que el umbral del valor p se divide por el número de pruebas.

Para cada estudio al que se le aplicó los criterios de calidad, también se le realizó un cálculo de la Puntuación Total (PT). Ésta consistía en la suma global de los correspondientes criterios que cumpliera el estudio (rango entre 0 y 12, con puntuación más elevada en el caso de mayor calidad). Las discrepancias en la evaluación de la calidad de cada estudio se resolvieron por consenso. No excluimos estudios con bajas puntuaciones de calidad.

### **C.5) Análisis estadístico**

El meta-análisis examinó la asociación de las variantes del gen *NRXN1* con los TEP para calcular el riesgo. Se calculó para todos los estudios la OR y el correspondiente intervalo de confianza al 95% (IC 95%). La concordancia interevaluador se midió por el coeficiente kappa de Cohen en los criterios de inclusión y exclusión. El modelo de efectos aleatorios se aplicó en el análisis estadístico debido a que se esperó una elevada heterogeneidad entre los estudios a priori. El mismo modelo asume una diversidad genuina en los resultados de varios estudios e incorpora una varianza entre los estudios en los cálculos.

En cada meta-análisis, se calculó la OR combinada y su correspondiente IC 95%. Además, la significación estadística de la OR combinada se valoró usando la prueba Z (Sanchez-Meca & Marin-Martinez, 2008). El análisis de sensibilidad se llevó a cabo para valorar cómo nuestros resultados estuvieron sustancialmente influenciados por la presencia de algún estudio individual mediante la retirada individual de cada uno de los estudios de forma sistemática y recalculando la significación del resultado.

Para valorar la heterogeneidad entre estudios, se utilizaron tres métodos: la prueba Q de Cochran, el índice  $I^2$  y la inspección visual de los forest plots, con sus intervalos de confianza al 95% (IC 95%) correspondientes. Los forest plots se construyen para representar los efectos estimados individuales y agrupados. El estadístico Q es una suma ponderada de las desviaciones cuadráticas de las ORs individuales estimadas de los estudios con respecto al estimador combinado (la magnitud del efecto de cada estudio individual se compara con el estimador combinado), de forma que valora la heterogeneidad de los estudios incluidos en un meta-análisis. Cuando las ORs son homogéneas, la Q sigue una distribución  $X^2$  con  $r-1$  ( $r$  es el número de estudios) grados de libertad (d.f.). Si  $p < 0,05$ , la heterogeneidad se considera estadísticamente significativa. La inconsistencia entre estudios se cuantifica con el índice  $I^2$  ( $I^2 = Q - d.f. / Q$ ), que puede ser interpretado como el porcentaje total de variación entre varios estudios debido a la heterogeneidad. El  $I^2$  toma valores entre 0 y 100%, con los valores mayores denotando un mayor grado de heterogeneidad (0-25%: no heterogeneidad; 25-50%: heterogeneidad moderada; 50-75%: heterogeneidad grande y 75-100%: heterogeneidad extrema). En casos de heterogeneidad, se intentó encontrar razones que la expliquen llevando a cabo análisis de sensibilidad con las características más importantes de los estudios.

Para explorar la heterogeneidad se diseñaron diferentes análisis por subgrupos que permiten pruebas de Chi-cuadrado entre las diferencias de grupo, tomando como moderadores potenciales a los distintos elementos de calidad previamente descritos. Con el fin de que el análisis por subgrupos fuera de utilidad y se aplicara de una forma adecuada, se procedió al mismo, siempre que el meta-análisis cumpliera los siguientes dos criterios: 1) grado de heterogeneidad  $I^2 \geq 25\%$ , 2) haya un mínimo de 10 estudios incluidos en el análisis.

Para valorar si el sesgo de publicación era una amenaza para la validez de los ORs combinados, se aplicaron los gráficos de embudo (funnel plots) con el método ‘trim-and-fill’ de “Duval and Tweedie’s” (Duval & Tweedie, 2000), así como la prueba de Egger (Steme & Egger, 2005). Cuando se observa la asimetría en el gráfico de embudo, se calcula el efecto estimado corregido para efectos de estudios pequeños, como los sesgos de publicación, mediante el método de trim-and-fill. Éste usa los datos disponibles para calcular el número y los resultados debido a la falta de estudios (no publicados) y recalcula el efecto total que se obtendría con su inclusión. La prueba de Egger es una regresión no ponderada que consiste en tomar la precisión de cada estudio como una variable independiente (el término precisión siendo definido como la inversa del error estándar de cada tamaño del efecto) y el tamaño del efecto dividido por su error estándar como la variable dependiente. Un resultado no estadísticamente significativo de la prueba t para la hipótesis del intercepto igual a cero permite el descarte del sesgo de publicación como una amenaza a la validez del efecto agrupado (Steme & Egger, 2005).

Todos los tests estadísticos fueron interpretados asumiendo un nivel de significación bilateral del 5% ( $\alpha = 0,05$ ). El principal análisis estadístico se llevó a cabo usando el programa RevMan 5.3 (The Cochrane Collaboration, 2014). Los gráficos de embudo con el método trim-and-fill y la prueba de Egger se calcularon con el programa Comprehensive Meta-analysis 2.0 (Borenstein, Hedges, Higgins, & Rothstein, 2005). Los métodos de análisis y los criterios de inclusión y exclusión se especificaron primeramente y se documentaron en el protocolo. Se siguieron las recomendaciones publicadas para revisiones sistemáticas de estudios de asociación genética (Bray, Higgins, Ioannidis, Khoury, & Little, 2006; Hirschhorn et al., 2002; Sagoo et al., 2009). Debido a que sólo usamos datos publicados previamente, no se consideró necesaria la aprobación del estudio por un Comité de Ética.

## D. RESULTADOS

---

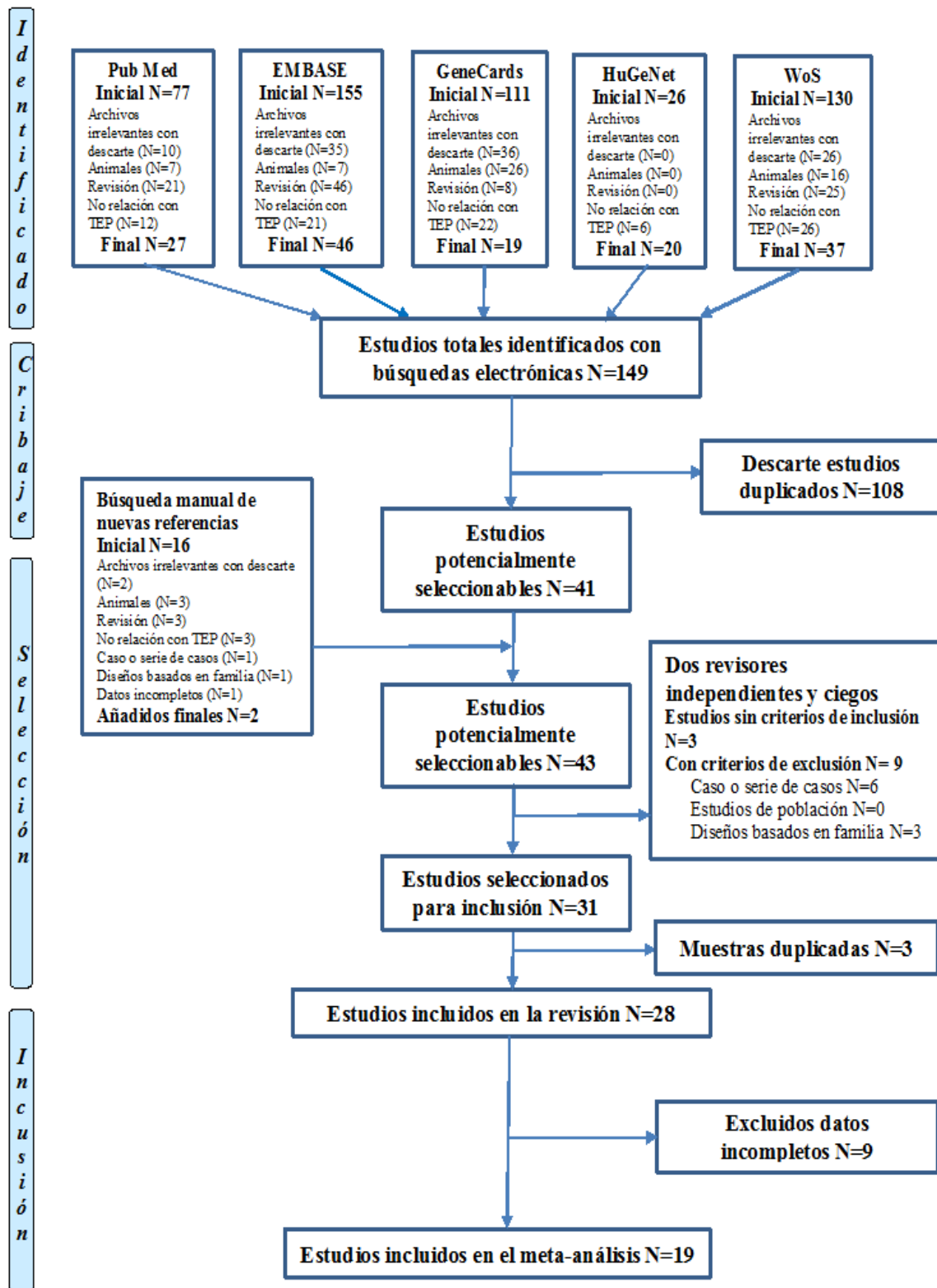
## D. RESULTADOS

La Figura 5 presenta un diagrama de flujo que resume los resultados del proceso de búsqueda y selección de los estudios. De un total de 41 estudios potencialmente seleccionables, nueve fueron excluidos, seis de ellos debido al diseño basado en casos o series de casos (Bradley et al., 2010; Cristino et al., 2014; Enggaard Hoeffding et al., 2014; Luykx et al., 2014; Novak, Boukhadra, Shaikh, Kennedy, & Le, 2009; Souza, Meltzer, Lieberman, Le, & Kennedy, 2010) y tres debido al diseño basado en la familia (Duong et al., 2012; Levinson et al., 2012; Van Den Bossche et al., 2013).

El coeficiente kappa de Cohen interobservador de los tres criterios de inclusión, osciló entre 0,69 (criterios 1 y 2) y 0,83 (criterio 3); para los dos criterios de exclusión fue de 0,69 (criterio 1) y de 1 (criterio 2). Posteriormente, de los 31 estudios seleccionados para la inclusión, tres fueron excluidos por muestras duplicadas, es decir, tenían una misma muestra para varios estudios (Chen et al., 2013; Ivorra et al., 2012; Purcell et al., 2009). Así pues, 28 estudios se incluyeron en la revisión y se procedió a la extracción de datos de los mismos (Gauthier et al., 2011; Giegling et al., 2011; Gratacòs et al., 2009; Greenwood, Light, Swerdlow, & Braff, 2013; Guilmatre et al., 2009; Ikeda et al., 2010; International Schizophrenia Consortium, 2008b; Ivorra et al., 2014; Jenkins, Wang, Hyde, Kleinman, & Law, 2011; Jenkins et al., 2014; Kenny et al., 2014; Kirov et al., 2008; Kirov et al., 2009; Lett et al., 2011; Levinson et al., 2012; Magri et al., 2010; Muhleisen et al., 2011; Need et al., 2009; O'Dushlaine et al., 2011; Rees et al., 2014; Rujescu et al., 2009; Shah et al., 2010; Stewart, Hall, Kang, Shaw, & Beaudet, 2011; Todarello et al., 2014; Van Den Bossche et al., 2012; Vrijenhoek et al., 2008; Ye et al., 2012; Yue et al., 2011). Nueve de estos estudios fueron excluidos debido a la imposibilidad de extraer datos con el fin de obtener las frecuencias de las anomalías genéticas necesarias en *NRXNI*: por un lado, se contactó con los autores de siete de estos estudios, sin obtener los datos requeridos (Giegling et al., 2011; Greenwood et al., 2013; Ivorra et al., 2014; Jenkins et al., 2011; Jenkins et al., 2014; Need et al., 2009; O'Dushlaine et al., 2011). Por otro lado, dos estudios (Lett et al., 2011; Yue et al., 2011) medían las frecuencias alélicas del gen *NRXNI* en toda la muestra de casos y controles, en lugar de medir las prevalencias del tipo de alteraciones o regiones alteradas de dicho gen (es decir, deleciones, inserciones, duplicaciones y polimorfismos; o exón, intrón y



región promotora), por lo que imposibilitaba extraer la información de interés. Finalmente, 19 estudios fueron los incluidos en el meta-análisis.



**Figura 5: Flujograma del proceso de búsqueda y valoración de selección de los estudios.** (Adaptado de Moher D et al. y PRISMA Group, 2009. Navarro-Mateu F et al., 2013. Sagoo et al., 2009).

Las características de los estudios seleccionados para la inclusión están descritas en la Tabla 3, incluyendo el año de publicación, el diseño del estudio, el número de casos con psicosis, de controles sanos y el total de ambos, la cifra en porcentaje del número total de hombres de la muestra, la edad media, la etnia, el instrumento diagnóstico utilizado para valorar la psicosis, si se ha valorado la herencia genética, el tipo de alteración genética en *NRXNI*, la región genética alterada en el mismo gen y si se ha analizado la posible interacción gen-ambiente. El total de la muestra con psicosis fue de 25208, y el de los controles sanos de 56971.

En la Tabla 4 quedan reflejadas las frecuencias de los tipos de alteración y región genética alterada del gen *NRXNI* de todos los estudios incluidos en el meta-análisis.

### **D.1) Meta-análisis de la asociación las variantes del gen *NRXNI* con el TEP**

#### **D.1.a) Alteraciones genéticas del *NRXNI***

Inicialmente, se realizó un meta-análisis según los distintos tipos de alteraciones genéticas del gen *NRXNI*: i) deleciones (Figura 6); ii) duplicaciones (Figura 7); y iii) polimorfismos o variantes (Figura 8). Es importante aclarar que no fue posible realizar ningún meta-análisis para las “inserciones” del *NRXNI*, debido a que sólo obtuvimos resultados para un estudio (Gauthier et al., 2011): OR = 4,05; IC 95% = 0,42, 39,35. La asociación global entre las alteraciones genéticas y el TEP, alcanzó la significación estadística para las deleciones, no siendo así para las duplicaciones ni los polimorfismos (Figuras 6-A, 7 y 8, respectivamente):

- i) OR = 3,36; IC 95% = 2,07, 5,46;  $p < 0,00001$ ;  $I^2 = 0\%$ ;
- ii) OR = 3,74; IC 95% = 0,96, 14,57;  $p = 0,06$ ;  $I^2 = 0\%$ ;
- iii) OR = 1,19; IC 95% = 0,71, 1,99;  $p = 0,51$ ;  $I^2 = 18\%$ .

Tabla 3: Características de los estudios de asociación seleccionados para el meta-análisis de las variantes del *NRXN1* y los TEP.

Primer Autor	Año	Diseño Estudio	Psicosis N	Control N	Muestra total (N)	Hombres N (%)	Edad Media	Etnia	Instrumento diagnóstico	Herencia genética	Alteración genética NRXN1	Área genética alterada	Estudio Gen x Amb
Rees	2014	Cas y con	6882	6316	13198	–	–	CA/AA/OT	Hª clin, SCAN	No	Del	Cod	No
Stewart	2011	Cas y con	235	191	426	–	–	CA/AA/AS/Hi/O T	DIGS	No	Del	–	No
Gauthier	2011	Cas y con	143	190	333	–	–	CA/OT	...	Sí	Del, Ins, Pol	Cod	No
Mühleisen	2011	Cas y con	1491	1261	2752	1475 (53,6%)	42,33	CA	...	Sí	Pol	Cod, NoC	No
Levinson	2011	Cas y con	3945	3611	7556	–	–	CA/AA	LDPS, DIGS, FIGS	No	Del	Cod	No
Magri	2010	Cas y con	170	162	332	–	–	CA	SCID-CV	No	Del	Cod	No
Shah	2010	Cas y con	170	160	330	205 (62,12%)	44,91	CA	SCID	No	Pol	Pro	No
Ikeda	2010	Cas y con	519	513	1032	510 (49,42%)	43,6	AS	Ent clin	No	Del	NoC	No
Bujescu	2009	Cas y con	2977	33746	36723	–	–	CA	SADS, SCAN, SCID, OPCRIT	No	Del, Dup	Cod, NoC	No
Vrijenhoek	2008	Cas y con	806	706	1512	–	–	CA	...	No	Del, Dup	Cod, NoC, Pro	No
Kirov	2008	Cas y con	93	372	465	–	–	CA	SCAN	Sí	Del	Cod, Pro	No
Van den Bossche	2012	Cas y con	1278	1150	2428	–	–	–	SCID-I, MINI, (D/F)IGS, SCAN, SADS-L, OPCRIT	No	Del, Dup	–	No
Todarello	2014	Cas y con	635	635	1270	–	–	CA	SCID-I y II	Sí	Del	Cod, NoC	No
Kenny	2013	Cas y con	273	287	560	367 (65,54%)	40,39	–	SCID-P, SADS-L, SCAN	No	Pol	–	No
Guilmatre	2009	Cas y con	236	236	472	261 (55,3%)	38,8	CA	SADS	Sí	Del	Cod	No
Gratacòs	2008	Cas y con	917	937	1854	1099 (59,28%)	44,69	–	SCID, MINI, PRISM	No	Pol	–	No
Kirov	2009	Cas y con	471	2792	3263	1663 (50,97%)	–	–	SCAN	Sí	Del	Cod	No
Ye	2012	Cas y con	574	467	1041	766 (73,58%)	47,58	CA/AA/AS/Hi	...	No	Del	–	No
Consortium	2008	Cas y con	3391	3181	6572	–	–	CA	OPCRIT, SCID, SCAN, SADS-L, DIGS, SIS, SAPS	No	Del	Cod	Sí

Cas y con: Caso y control; CA: Caucásico; AA: Afroamericano; OT: Otras etnias; AS: Asiático; HI: Hispano; Hª clin: Historia clínica; SCAN: Schedules for Clinical Assessment in Neuropsychiatry; DIGS: Diagnostic Interview for Genetic Studies; LPDS: Lifetime Dimensions of Psychosis Scale; FIGS: Family Interview for Genetic Studies; SCID-(CV, P, I, II): Structured Clinical Interview for DSM-(Clinical Version, Patient Edition, Axis I Disorders, Axis II Personality Disorders); Ent clin: Entrevista clínica; SADS-(L): Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia-(Lifetime Versión); SCAN: Schedules for Clinical Assessment in Neuropsychiatry; OPCRIT: Operational Criteria Checklist; MINI: Mini-International Neuropsychiatric Interview; PRISM: Psychiatric Research Interview for Substance and Mental Disorders; SIS: Suicide Intent Scale; SAPS: Scale for the Assessment of Positive Symptoms; Del: Delecciones; Ins: Inserciones; Pol: Polimorfismos; Dup: Duplicaciones; Cod: Codificadora; NoC: No Codificadora; Pro: Promotora.

Tabla 4: Frecuencias de los tipos de alteración y región genética alterada del gen *NRXN1* de los estudios incluidos.

		Tipo de alteración genética del NRXN1																Región genética del NRXN1 alterada											
		Deleciones				Inserciones				Duplicaciones				Polimorfismos				Codificante (exón)				No Codificante (intrón)				Promotora			
		Casos		Controles		Casos		Controles		Casos		Controles		Casos		Controles		Casos		Controles		Casos		Controles		Casos		Controles	
		Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No
Rees	2014	11	6871	0	6316	0	6882	0	6316	0	6882	0	6316	0	6882	0	6316	11	6871	0	6316	0	6882	0	6316	0	6882	0	6316
Stewart	2011	1	234	0	191	0	235	0	191	0	235	0	191	0	235	0	191	1	234	0	191	0	235	0	191	0	235	0	191
Gauthier	2011	1	142	2	188	3	140	1	189	0	143	0	190	28	115	36	154	32	111	39	151	0	143	0	190	0	143	0	190
Mühleisen	2011	0	1491	0	1226	0	1491	0	1226	0	1491	0	1226	18	1473	12	1214	7	1484	8	1218	11	1480	4	1222	0	1491	0	1226
Levinson	2011	10	3935	1	3610	0	3945	0	3611	0	3945	0	3611	0	3945	0	3611	10	3935	1	3610	0	3945	0	3611	0	3945	0	3611
Magri	2010	1	171	0	160	0	172	0	160	0	172	0	160	0	172	0	160	1	171	0	160	0	172	0	160	0	172	0	160
Shah	2010	0	170	0	160	0	170	0	160	0	170	0	160	2	168	3	157	0	170	0	160	0	170	0	160	2	168	3	157
Ikeda	2010	1	518	0	513	0	519	0	513	0	519	0	513	0	519	0	513	0	519	0	513	1	518	0	513	0	519	0	513
Bujescu	2009	12	2965	49	33697	0	2977	0	33746	2	2975	3	33743	0	2977	0	33746	7	2970	5	33741	7	2970	47	33699	0	2977	0	33746
Vrijenhoek	2008	4	802	0	706	0	806	0	706	1	805	1	705	0	806	0	706	2	804	0	706	2	804	1	705	1	805	0	706
Kirov	2008	1	92	0	372	0	93	0	372	0	93	0	372	0	93	0	372	1	92	0	372	0	93	0	372	1	92	0	372
Van den Bossche	2012	2	1276	0	1150	0	1278	0	1150	1	1277	0	1150	0	1278	0	1150	0	1278	0	1150	0	1278	0	1150	0	1278	0	1150
Todarello	2014	7	628	0	635	0	635	0	635	0	635	0	635	0	635	0	635	3	632	0	635	4	631	0	635	0	635	0	635
Kenny	2013	0	273	0	287	0	273	0	287	0	273	0	287	7	266	1	286	0	273	0	287	0	273	0	287	0	273	0	287
Guilmatre	2009	2	234	0	236	0	236	0	236	0	236	0	236	0	236	0	236	2	234	0	236	0	236	0	236	0	236	0	236
Gratacòs	2008	0	917	0	937	0	917	0	937	0	917	0	937	0	917	0	937	0	917	0	937	0	917	0	937	0	917	0	937
Kirov	2009	1	470	3	2789	0	471	0	2792	0	471	0	2792	0	471	0	2792	1	470	3	2789	0	471	0	2792	0	471	0	2792
Ye	2012	0	574	0	467	0	574	0	467	0	574	0	467	0	574	0	467	0	574	0	467	0	574	0	467	0	574	0	467
Consortium	2008	3	3388	1	3180	0	3391	0	3181	0	3391	0	3181	0	3391	0	3181	3	3388	1	3180	0	3391	0	3181	0	3391	0	3181

### **D.1.b) Regiones genéticas del *NRXNI***

Posteriormente, se realizó un meta-análisis de las diferentes regiones genéticas alteradas en *NRXNI* y obtuvimos sólo asociación significativa para la región codificante (exón) y la región no codificante (intrón). Los resultados para el análisis específico del exón, del intrón y del área promotora (Figuras 9-A, 10-A y 11, respectivamente) fueron los siguientes:

- i) OR = 3,53; IC 95% = 1,58, 7,86; p = 0,002;  $I^2 = 58\%$ ;
- ii) OR = 2,02; IC 95 % = 1,10, 3,69; p = 0,02;  $I^2 = 0\%$ ;
- iii) OR = 1,76; IC 95% = 0,31, 9,85; p = 0,52;  $I^2 = 25\%$ .

### **D.2) Análisis de sensibilidad**

No se ha encontrado ningún estudio que altere los resultados cuando fueron extraídos individualmente de los meta-análisis durante el análisis de sensibilidad, salvo un artículo concreto (Rujescu, 2009), como veremos a continuación.

#### **D.2.a) Meta-análisis de las deleciones**

Es de interés destacar el efecto posible del artículo Rujescu et al (2009) en el meta-análisis de las deleciones (Figura 6-A), ya que su peso específico en los cálculos meta-analíticos fue del 58,6%. Cuando se procede al mismo análisis, prescindiendo de dicho estudio (Figura 6-B), no obtenemos una alteración importante de los valores de los resultados, manteniéndose la significación estadística (OR = 4,39; IC 95% = 2,07, 9,32; p = 0,0001;  $I^2 = 0\%$ ).

#### **D.2.b) Meta-análisis de la región exónica**

En el meta-análisis de la región exónica (Figura 9-A), el mismo artículo, cuando es excluido del análisis (Figura 9-B), comprobamos que sí que repercute en el resultado del meta-análisis, obteniendo una reducción pronunciada de la odds ratio (OR = 2,04; IC 95% = 1,11, 3,75; p = 0,02), aunque sigue siendo estadísticamente significativa, y disminuyendo la heterogeneidad previa ( $I^2 = 21\%$ ).

### D.2.c) Meta-análisis de la región intrónica

Al valorar el meta-análisis de la región intrónica (Figura 10-A), vemos que destaca de nuevo el artículo de Rujescu et al (2009), al obtener un peso específico del 58% sobre los cálculos meta-analíticos. Sin embargo, cuando se procede al meta-análisis, prescindiendo de dicho estudio (Figura 10-B), no obtenemos una alteración de los mismos (OR = 2,57; IC 95% = 1,01, 6,54; p = 0,05; I<sup>2</sup> = 0%).

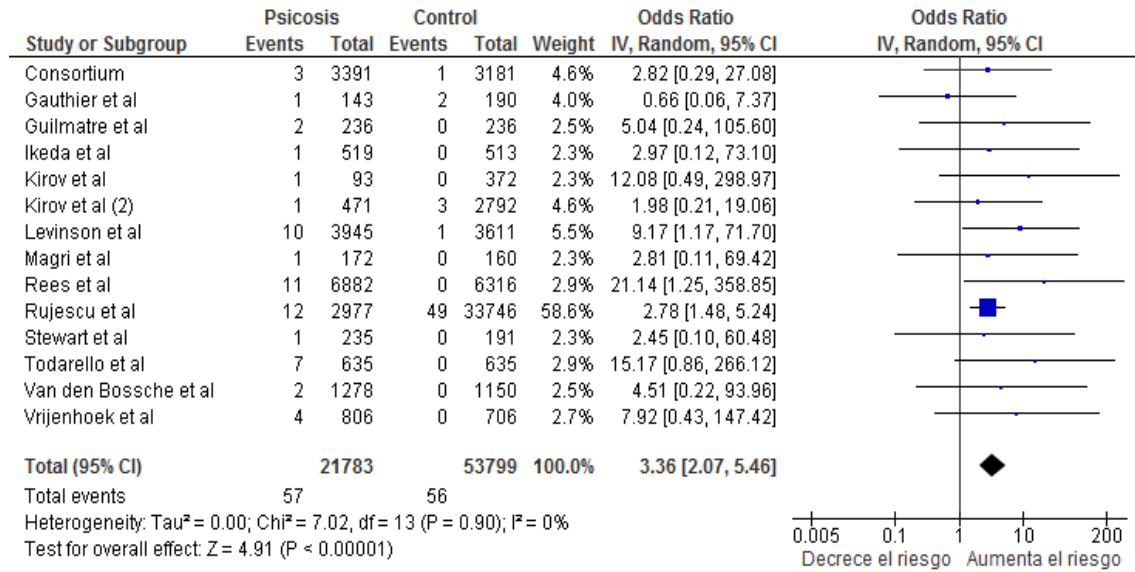


Figura 6-A: Forest plot de las deleciones en *NRX1* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).

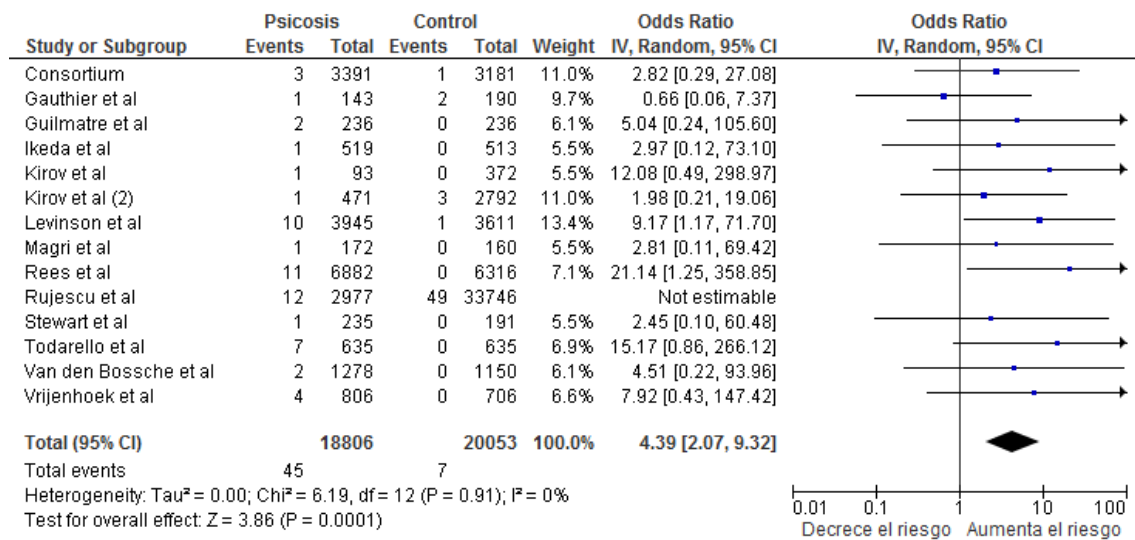
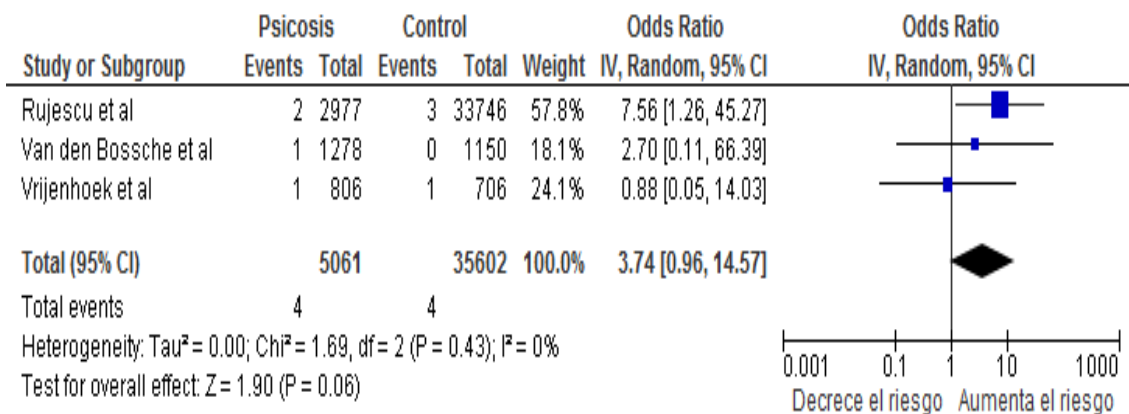
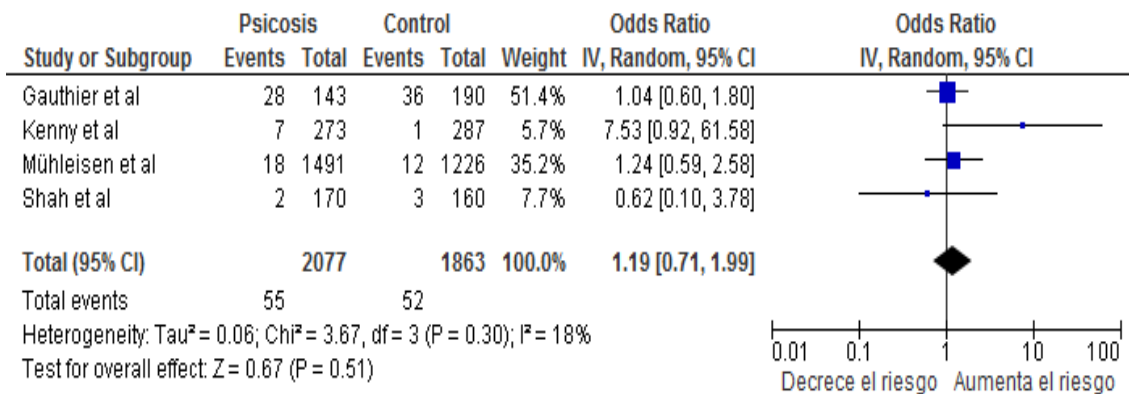


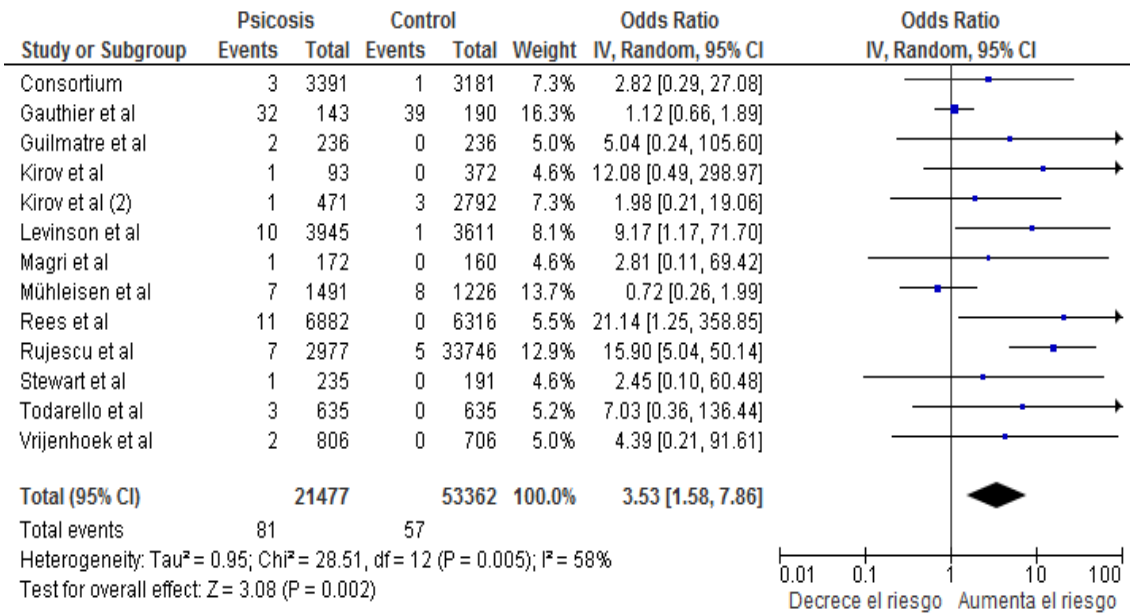
Figura 6-B (sin estudio de Rujescu et al, [2009]): Forest plot de las deleciones en *NRX1* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).



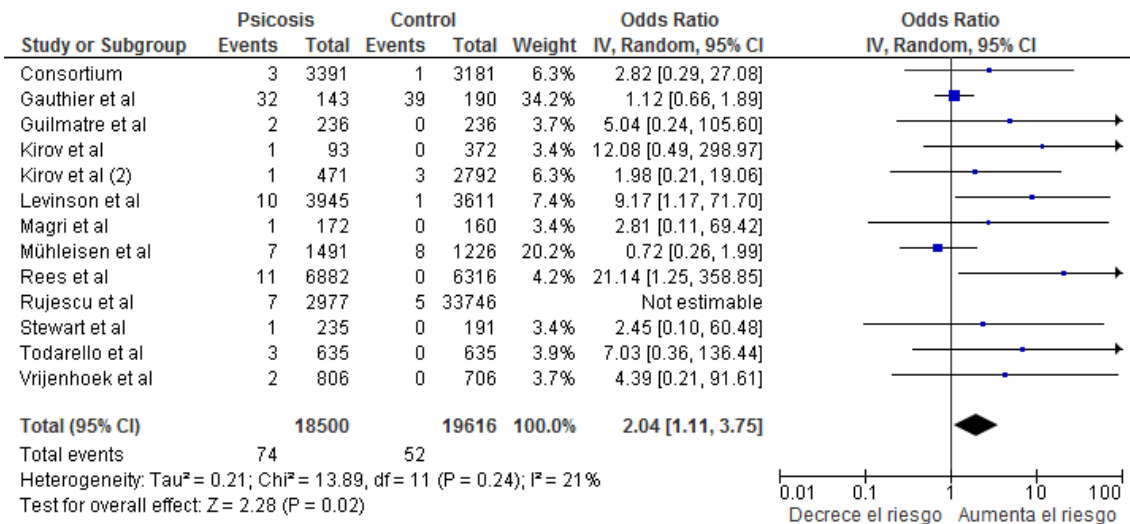
**Figura 7: Forest plot de las duplicaciones en *NRXN1* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**



**Figura 8: Forest plot de las variantes en *NRXN1* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**

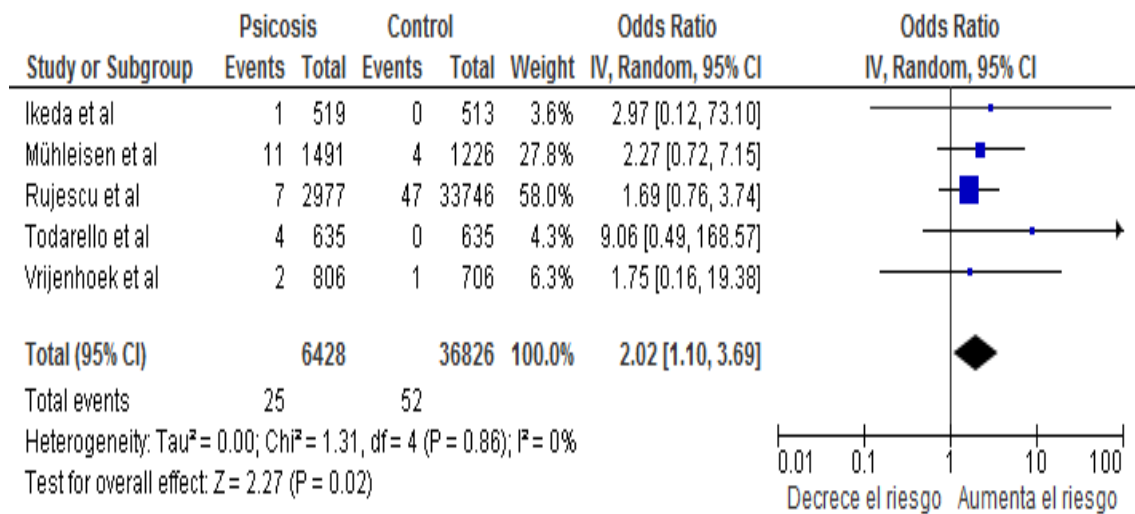


**Figura 9-A: Forest plot de la región codificante (exón) en *NRXNI* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**

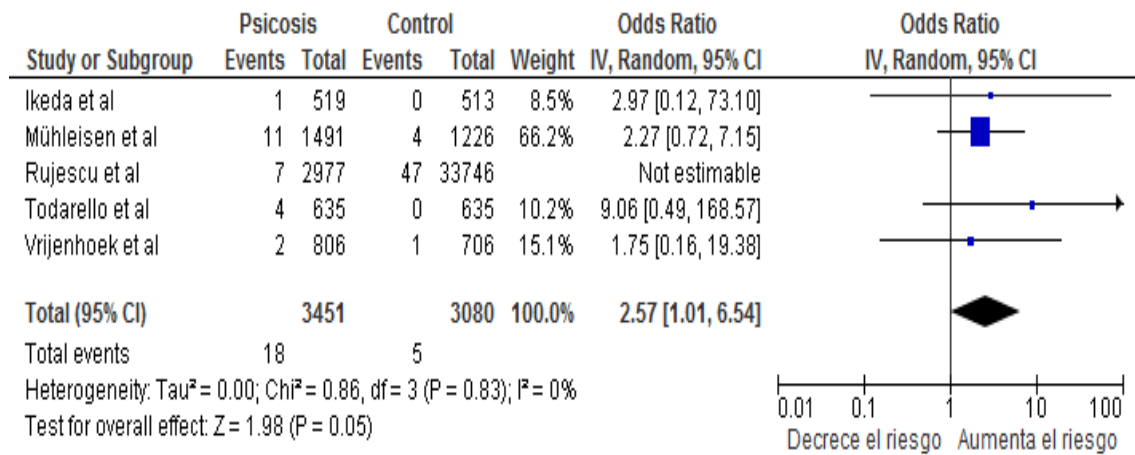


**Figura 9-B: Forest plot de la región codificante (exón) en *NRXNI* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**

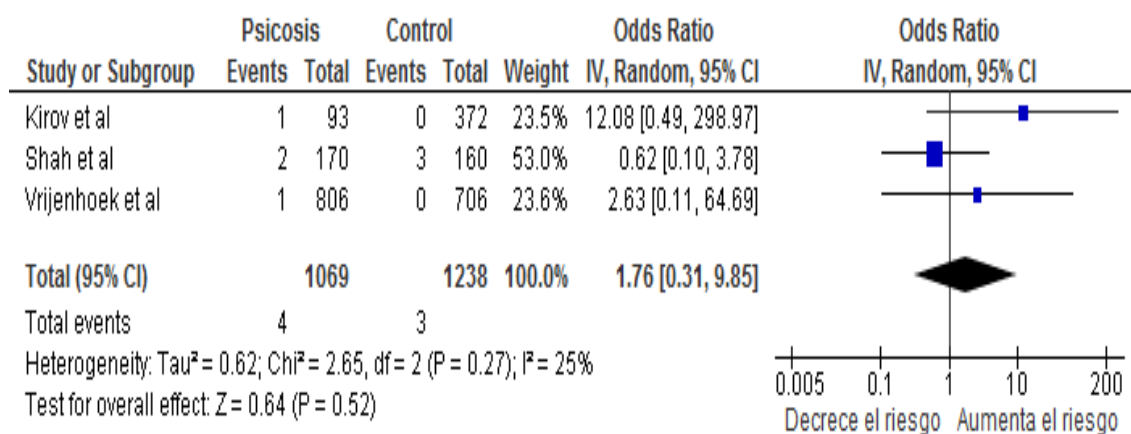




**Figura 10-A: Forest plot de la región no codificante (intrón) en *NRXN1* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**



**Figura 10-B: Forest plot de la región no codificante (intrón) en *NRXN1* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**



**Figura 11: Forest plot de la región promotora en *NRXN1* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**

### D.3) Calidad de los estudios

La Tabla 5 describe las características de calidad de los estudios analizados y la puntuación total de calidad tiene una media = 3,895, DE = 2,049. Destaca el hecho de que ningún estudio cumple con el criterio 6, la valoración ciega del fenotipo respecto del genotipo, y sólo el estudio de Guilmatre (Guilmatre, 2009) emplea una misma escala clínica en casos y controles (criterio 4). Por otro lado, los 19 estudios incluidos cumplen con el criterio 7 de control calidad genotipado.

Únicamente, el meta-análisis de la región exónica cumplió con los criterios necesarios (grado de heterogeneidad  $I^2 \geq 25\%$  y un mínimo de 10 estudios incluidos en el análisis) para proceder al análisis por subgrupos (Tabla 6), y se puede comprobar que no ha obtenido ningún resultado estadísticamente significativo como para poder valorar alguno de los criterios de calidad en forma de variable moderadora que pudiera condicionar el resultado obtenido en las medidas de asociación.

**Tabla 5: Descripción de los criterios de calidad de los estudios de asociación incluidos para el meta-análisis de las variantes del *NRXN1* y los TEP.**

Primer Autor	Año	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	PT
		Repr Caso	Repr Cont	Mismo instrum diagnos	Misma escala clínica	Etnia	Valora ciega	Control calidad genot	Prueba HWE	Estratif poblac	Interac gen-gen gen-amb	Ajuste confus	Múltip compar	
Bees	2014	Sí	No	No	No	CA (91,65), AA (3,65), OT (4,7)	No	Sí	No	Sí	No	No	Sí	5
Stewart	2011	No	No	No	No	CA (57,45), AA (26,38), AS (9,36), HI (3,4), OT (2,55)	No	Sí	No	No	No	No	No	2
Gauthier	2011	No	No	No	No	CA (93), OT (7)	No	Sí	No	No	No	No	No	2
Mühleisen	2011	Sí	Sí	No	No	CA (100)	No	Sí	Sí	No	No	No	No	5
Levinson	2011	No	No	No	No	CA (67,71), AA (32,29)	No	Sí	Sí	No	No	No	Sí	4
Magri	2010	Sí	Sí	No	No	CA (100)	No	Sí	Sí	Sí	No	No	No	6
Shah	2010	Sí	Sí	No	No	CA (100)	No	Sí	Sí	Sí	No	No	No	6
Ikeda	2010	Sí	Sí	Sí	No	AS (100)	No	Sí	No	Sí	No	No	No	6
Ruiescu	2009	No	Sí	No	No	CA (100)	No	Sí	No	No	No	No	No	3
Vrijenhoek	2008	No	No	No	No	CA (100)	No	Sí	No	No	No	No	No	2
Kirov	2008	No	No	No	No	CA (100)	No	Sí	No	No	No	No	No	2
Van den Bossche	2012	No	No	No	No	No	No	Sí	No	No	No	No	No	1
Todarello	2014	Sí	Sí	Sí	No	CA (100)	No	Sí	Sí	Sí	No	No	No	7
Kenny	2013	No	No	No	No	No	No	Sí	No	No	Sí	No	No	2
Guilmatre	2009	Sí	Sí	Sí	Sí	CA (100)	No	Sí	No	No	No	No	Sí	7
Gratacòs	2008	Sí	Sí	No	No	No	No	Sí	No	Sí	No	Sí	Sí	6
Kirov	2009	No	No	No	No	No	No	Sí	No	No	No	No	No	1
Ye	2012	No	No	No	No	AA (42,51), CA (53,31), AS (1,57), HI (2,61)	No	Sí	No	No	No	No	No	2
Consortium	2008	No	No	No	No	CA (100)	No	Sí	No	Sí	Sí	Sí	No	5

1,2: Representatividad de los casos (controles). 3: Mismo instrumento diagnóstico en casos y controles. 4: Misma escala clínica en casos y controles. 5: Etnia de los casos; si es Sí, se expresan los porcentajes entre paréntesis (CA: Caucásico; AA: Afroamericano; OT: Otras etnias; AS: Asiático; HI: Hispano). 6: Valoración ciega del fenotipo respecto del genotipo. 7: Control calidad genotipado. 8: Hardy-Weinberg Equilibrium. 9: Estratificación de la población. 10: Interacción gen-gen o gen-ambiente. 11: Ajuste para confusores. 12: Control múltiples comparaciones. PT: Puntuación total.

**Tabla 6: Análisis por subgrupos de los criterios de calidad según el exón del NRXNI.**

Región Codificante (exón)						
	K	Nº partic.	OR	IC 95%	I <sup>2</sup> (%)	P-valor*
<b>Representatividad casos</b>						
Sí	5	17989	2,96	0,70, 12,55	44	
No	8	56850	4,05	1,36, 12,06	66	0,73
<b>Representatividad controles</b>						
Sí	5	41514	3,88	0,71, 21,14	75	
No	8	33325	2,88	1,22, 6,83	30	0,76
<b>Mismo instrumento diagnóstico</b>						
Sí	2	1742	5,98	0,72, 49,99	0	
No	11	73097	3,38	1,41, 8,10	63	0,63
<b>Misma escala clínica</b>						
Sí	1	472	5,04	0,24, 105,60	NA	
No	12	74367	3,49	1,51, 8,08	61	0,82
<b>Etnia</b>						
Sí	1	3263	1,98	0,21, 19,06	NA	
No	12	71576	3,76	1,59, 8,88	61	0,60
<b>Valoración ciega</b>						
Sí	0	0	NA	NA	NA	
No	13	74839	3,53	1,58, 7,86	58	NA
<b>Control de calidad del genotipado</b>						
Sí	13	74839	3,53	1,58, 7,86	58	
No	0	0	NA	NA	NA	NA
<b>Prueba HWE</b>						
Sí	4	11875	2,56	0,56, 11,65	51	
No	9	62964	4,30	1,48, 12,47	63	0,58
<b>Estratificación de la población</b>						
Sí	4	21372	5,50	1,39, 21,70	0	
No	9	53467	3,14	1,20, 8,24	68	0,51
<b>Interacción gen-gen/gen-ambiente</b>						
Sí	1	6572	2,82	0,29, 27,08	NA	
No	12	68267	3,65	1,55, 8,61	61	0,83
<b>Ajuste para confundidores</b>						
Sí	1	6572	2,82	0,29, 27,08	NA	
No	12	68267	3,65	1,55, 8,61	61	0,83
<b>Control de múltiples comparadores</b>						
Sí	3	21226	9,98	2,32, 42,95	0	
No	10	53613	2,77	1,15, 6,68	61	0,14
<b>Comorbilidad psiquiátrica en casos</b>						
Sí	0	0	NA	NA	NA	
No	13	74839	3,53	1,58, 7,86	58	NA
<b>Comorbilidad psiquiátrica en controles</b>						
Sí	0	0	NA	NA	NA	
No	13	74839	3,53	1,58, 7,86	58	NA

K: Número de estudios. Nº partic.: Número de participantes.

OR: Odds Ratio. IC 95%: Intervalo de confianza al 95%.

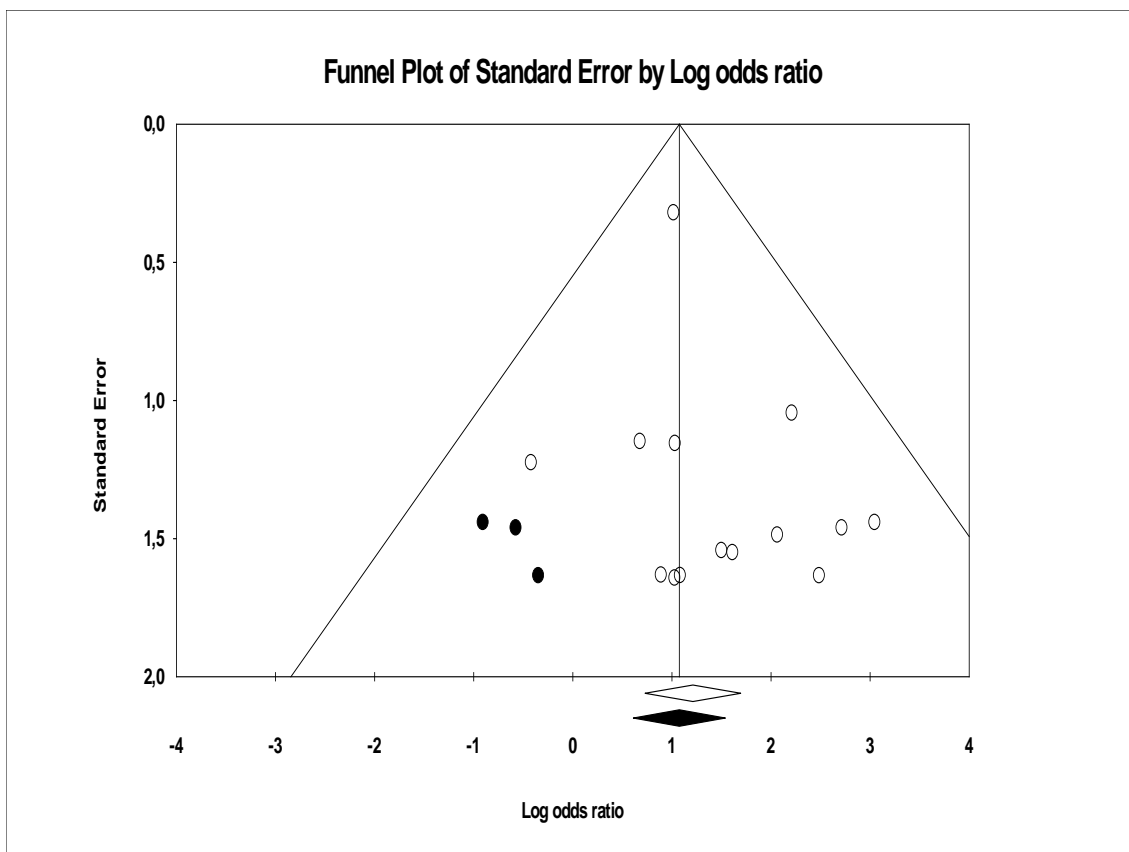
\* Prueba de Chi-cuadrado para las diferencias de subgrupo.

NA: No aplicable. HWE: Hardy-Weinberg Equilibrium.

#### D.4) Sesgo de publicación

##### D.4.a) Deleciones en *NRXNI*

Como muestra la Figura 12-A, el método trim-and-fill de imputación de datos perdidos añadió 3 tamaños del efecto para simetrizar el aspecto del funnel plot. La Tabla 7-A muestra cómo cambió el odds ratio promedio y su intervalo de confianza cuando se imputaron los datos supuestamente no recuperados en el meta-análisis, produciéndose una disminución del 12,8% en el valor del odds ratio medio  $[(3,359-2,929)/3,359 = 0,128]$ . El test de Egger no alcanzó un resultado estadísticamente significativo ( $p = 0,180$ ). Aunque el test de Egger no alcanzó la significación estadística, el hecho de que el método trim-and-fill haya imputado 3 datos perdidos, unido al descenso, nada despreciable, de un 12,8% en el valor del odds ratio medio, es indicativo de la existencia de sesgo de publicación.



**Figura 12-A: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre las deleciones en *NRXNI* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**

**Tabla 7-A: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre las deleciones en *NRXNI* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**

<u>Deleciones en NRXNI</u>	<i>k</i>	<i>OR</i> <sub>+</sub>	<b>IC al 95%</b>	
			<i>OR</i> <sub>i</sub>	<i>OR</i> <sub>s</sub>
Datos observados	14	3,359	2,070	5,449
Datos observados + imputados	14 + 3	2,929	1,839	4,665
<b>Test de Egger</b>	<i>b</i> <sub>0</sub> = 0,467; <i>t</i> (12) = 1,422, <i>p</i> = .180			

*k* = número de estudios. *OR*<sub>+</sub> = odds ratio medio asumiendo un modelo de efectos aleatorios. *OR*<sub>i</sub> y *OR*<sub>s</sub> = límites confidenciales inferior y superior del intervalo de confianza al 95% en torno al odds ratio medio. *b*<sub>0</sub> = intercepción del modelo de regresión simple entre tamaño del efecto y precisión.

Dado el elevado tamaño muestral del estudio de Rujescu et al. (2009) en comparación con el resto de estudios, hemos analizado también el sesgo de publicación eliminando dicho estudio. La Figura 1b y la Tabla 1b presentan los resultados. Como puede observarse en la Figura 1b, el método trim-and-fill de imputación de datos perdidos añadió un tamaño del efecto para simetrizar el aspecto del funnel plot. La tabla 1b muestra cómo cambió el odds ratio promedio y su intervalo de confianza cuando se imputó el dato supuestamente no recuperado en el meta-análisis, produciéndose una disminución del 11,2% en el valor del odds ratio medio [(4,388-3,895)/4,388 = 0,112]. El test de Egger no alcanzó un resultado estadísticamente significativo (*p* = 0,521). Aunque el test de Egger no alcanzó la significación estadística, el hecho de que el método trim-and-fill dé lugar a un odds ratio medio un 11,2% inferior al obtenido con los datos originales, es indicativo de la existencia de sesgo de publicación.

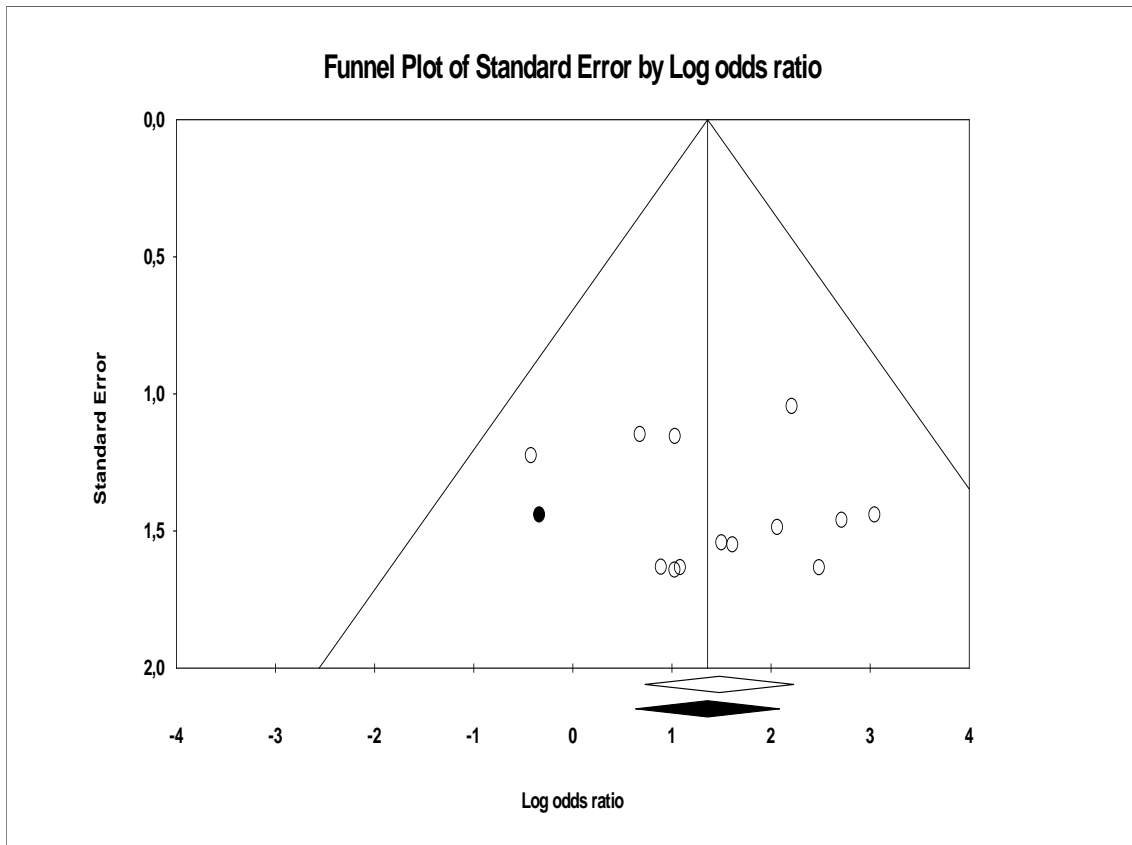


Figura 12-B: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre las deleciones en *NRXNI* y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez eliminado el estudio de Rujescu et al (2009).

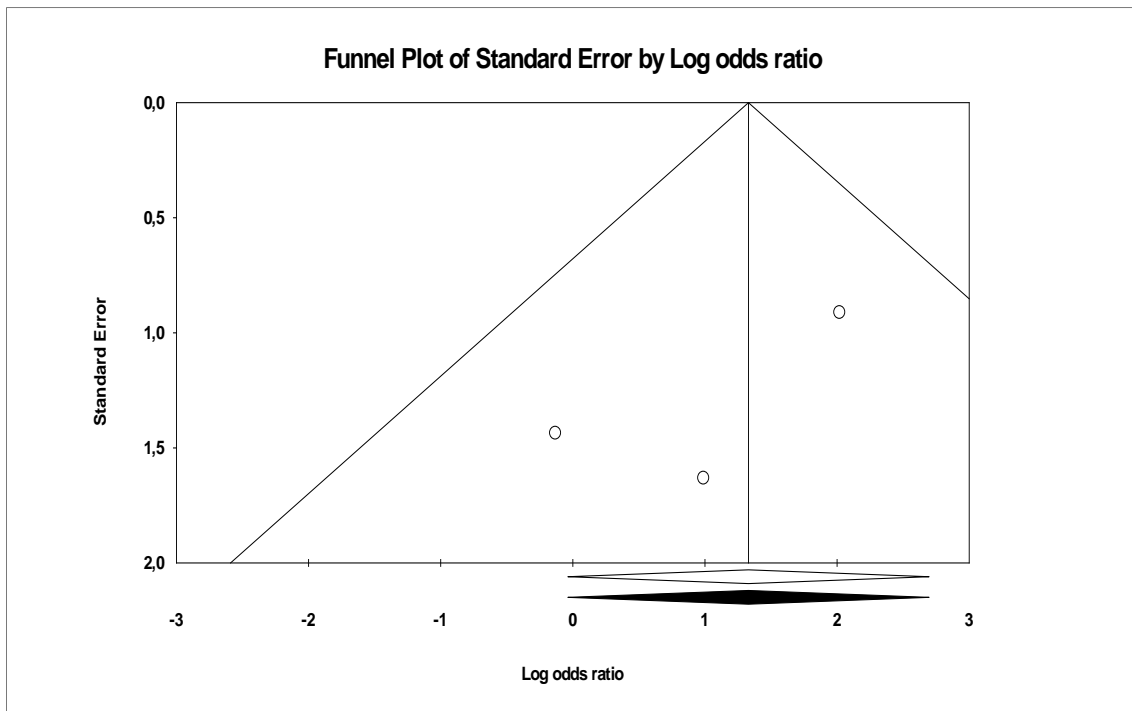
Tabla 7-B: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre las deleciones en *NRXNI* y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez eliminado el estudio de Rujescu et al (2009).

Deleciones en <i>NRXNI</i>	<i>k</i>	<i>OR</i> <sub>+</sub>	IC al 95%	
			<i>OR</i> <sub>i</sub>	<i>OR</i> <sub>s</sub>
Datos observados	13	4,388	2,069	9,305
Datos observados + imputados	13 + 1	3,895	1,884	8,053
<b>Test de Egger</b>		$b_0 = 0,857; t(11) = 0,663, p = .521$		

*k* = número de estudios. *OR*<sub>+</sub> = odds ratio medio asumiendo un modelo de efectos aleatorios. *OR*<sub>i</sub> y *OR*<sub>s</sub> = límites confidenciales inferior y superior del intervalo de confianza al 95% en torno al odds ratio medio. *b*<sub>0</sub> = intercepción del modelo de regresión simple entre tamaño del efecto y precisión.

#### D.4.b) Duplicaciones en *NRXNI*

Como muestran la Figura 13 y la Tabla 8, el método trim-and-fill de imputación de datos perdidos no añadió ningún tamaño del efecto para simetrizar el funnel plot. El test de Egger no alcanzó un resultado estadísticamente significativo ( $p = 0,394$ ). Por tanto, puede desecharse el sesgo de publicación como una amenaza contra la validez de los resultados de este meta-análisis. No obstante, el escaso número de estudios incluidos en este meta-análisis invita a una interpretación cautelosa de los resultados.



**Figura 13: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre las duplicaciones y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**



Tabla 8: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre las duplicaciones y los trastornos del espectro psicótico (TEP).

Duplicaciones	$k$	$OR_+$	IC al 95%	
			$OR_i$	$OR_s$
Datos observados	3	3,779	0,963	14,824
Datos observados + imputados	3 + 0	3,779	0,963	14,824
<b>Test de Egger</b>		$b_0 = -2,373; t(1) = -1,405, p = .394$		

$k$  = número de estudios.  $OR_+$  = odds ratio medio asumiendo un modelo de efectos aleatorios.  $OR_i$  y  $OR_s$  = límites confidenciales inferior y superior del intervalo de confianza al 95% en torno al odds ratio medio.  $b_0$  = intercepción del modelo de regresión simple entre tamaño del efecto y precisión.

#### D.4.c) Variantes en NRXNI

Podemos comprobar en la Figura 14 y la Tabla 9, que el método trim-and-fill de imputación de datos perdidos no añadió ningún tamaño del efecto para simetrizar el funnel plot. El test de Egger no alcanzó un resultado estadísticamente significativo ( $p = 0,523$ ). Por tanto, puede desecharse el sesgo de publicación como una amenaza contra la validez de los resultados de este meta-análisis, si bien debe hacerse una interpretación cautelosa de estos resultados debido al escaso número de estudios.

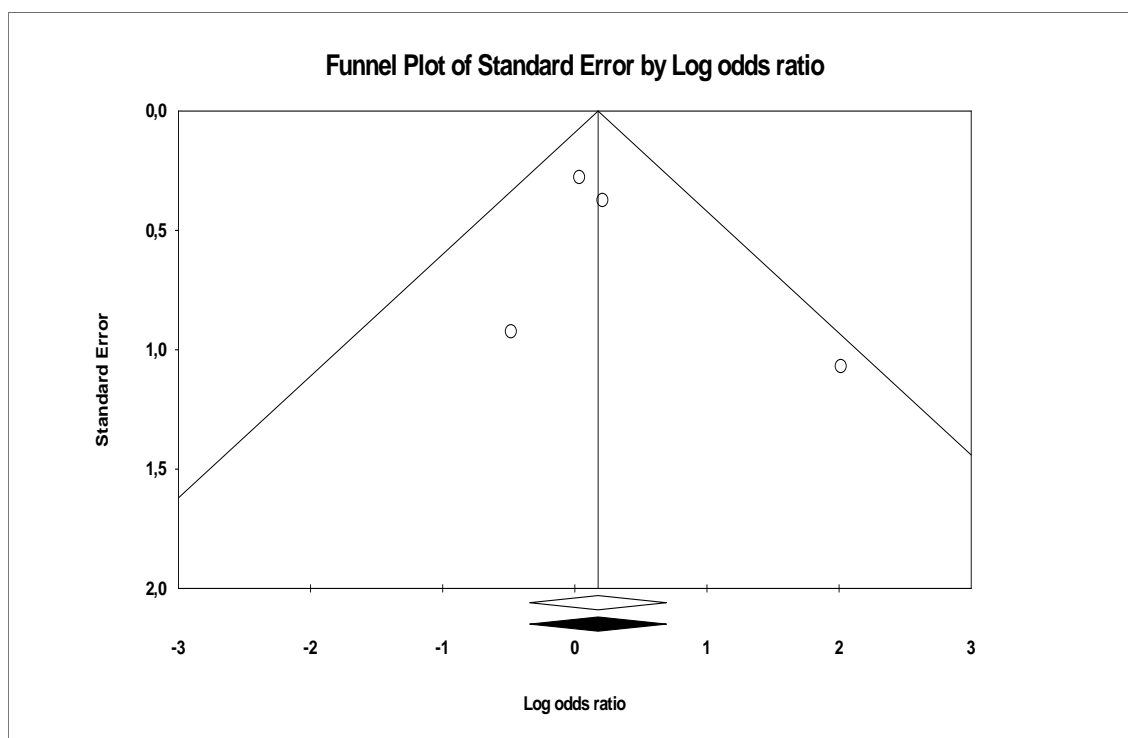


Figura 14: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre las varianes del NRXNI y los trastornos del espectro psicótico (TEP).

**Tabla 9: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre las variantes del *NRXNI* y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**

Polimorfismos	$k$	$OR_+$	IC al 95%	
			$OR_i$	$OR_s$
Datos observados	4	1,192	0,711	2,000
Datos observados + imputados	4 + 0	1,192	0,711	2,000
<b>Test de Egger</b>	$b_0 = 0,969; t(2) = 0,767, p = .523$			

$k$  = número de estudios.  $OR_+$  = odds ratio medio asumiendo un modelo de efectos aleatorios.  $OR_i$  y  $OR_s$  = límites confidenciales inferior y superior del intervalo de confianza al 95% en torno al odds ratio medio.  $b_0$  = intercepción del modelo de regresión simple entre tamaño del efecto y precisión.

#### D.4.d) Región codificante (exón) del *NRXNI*

La Figura 15-A muestra que el método trim-and-fill de imputación de datos perdidos añadió 7 tamaños del efecto para simetrizar el aspecto del funnel plot. La Tabla 10-A muestra cómo cambió el odds ratio promedio y su intervalo de confianza cuando se imputaron los datos supuestamente no recuperados en el meta-análisis, produciéndose una disminución del 64,5% en el valor del odds ratio medio  $[(3,529 - 1,253)/3,529 = 0,645]$ . De hecho, como muestran los intervalos de confianza, el odds ratio medio pasó de ser estadísticamente significativo con los datos observados a no serlo cuando se imputaron los datos perdidos. Además, el test de Egger alcanzó un resultado estadísticamente significativo ( $p = 0,043$ ). Por tanto, estos resultados indican la existencia de un serio problema de sesgo de publicación.

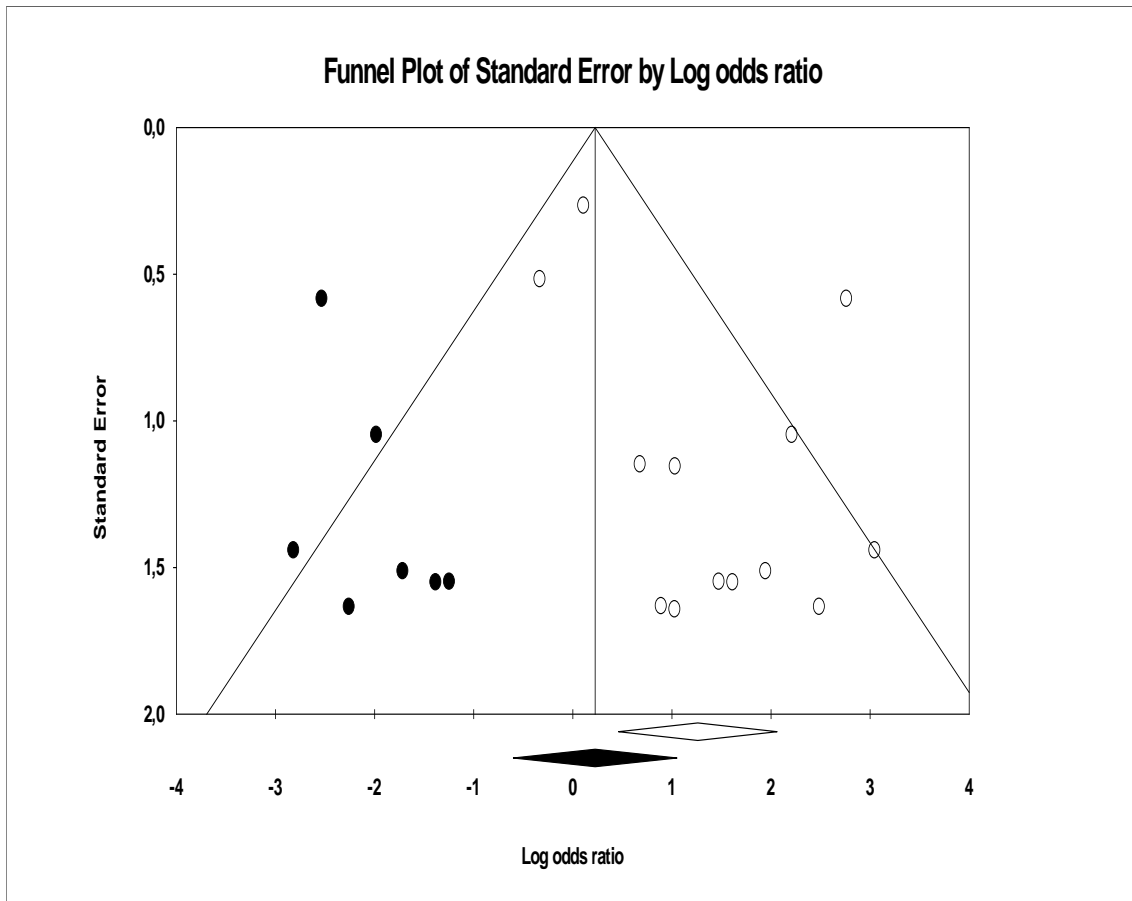


Figura 15-A: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre la región codificante (exón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP).

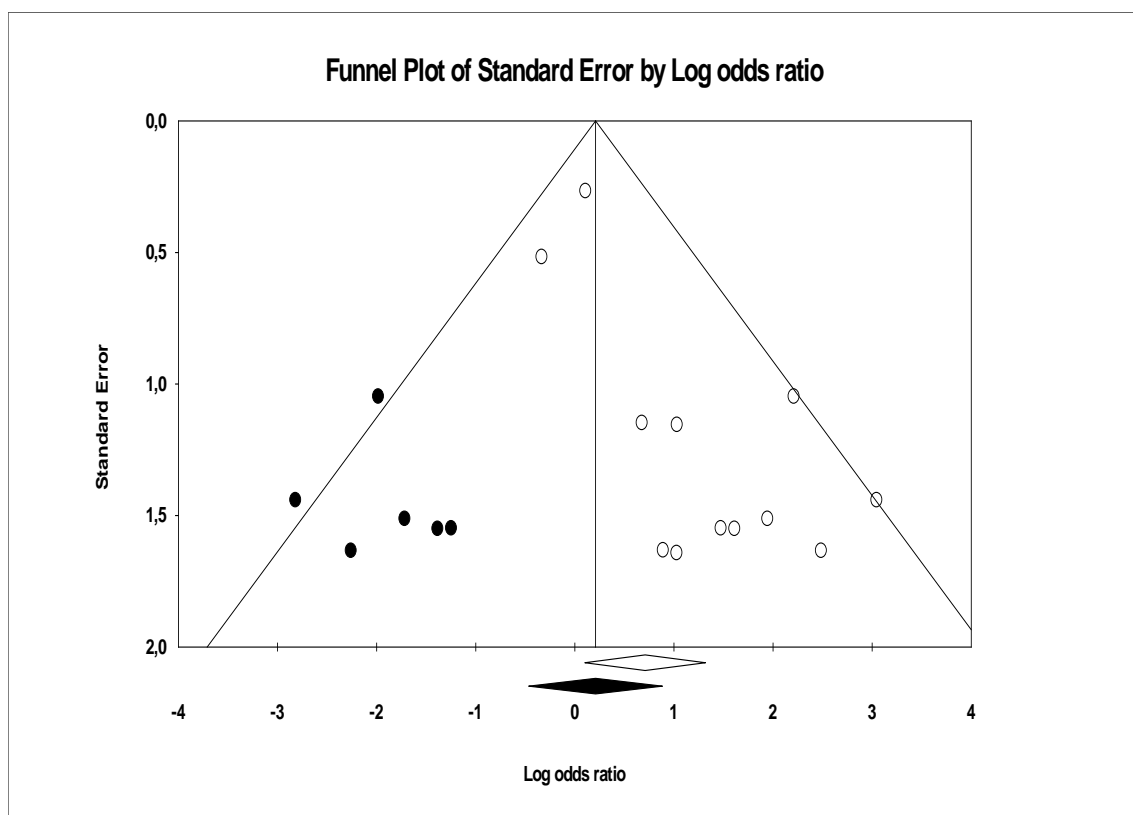
Tabla 10-A: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre la región codificante (exón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP).

Región codificante (exón)	$k$	$OR_+$	IC al 95%	
			$OR_i$	$OR_s$
Datos observados	13	3,529	1,585	7,857
Datos observados + imputados	14 + 7	1,253	0,548	2,864
<b>Test de Egger</b>		$b_0 = 1,380; t(11) = 2,290, p = .043$		

$k$  = número de estudios.  $OR_+$  = odds ratio medio asumiendo un modelo de efectos aleatorios.  $OR_i$  y  $OR_s$  = límites confidenciales inferior y superior del intervalo de confianza al 95% en torno al odds ratio medio.  $b_0$  = intercepción del modelo de regresión simple entre tamaño del efecto y precisión.

La Figura 15-B y la Tabla 10-B presentan los resultados de los análisis del sesgo de publicación cuando se excluyó el estudio de Rujescu et al. (2009). Como muestra la Figura 15-B, el método trim-and-fill de imputación de datos perdidos añadió 6 tamaños

del efecto para simetrizar el aspecto del funnel plot. La Tabla 10-B muestra cómo cambió el odds ratio promedio y su intervalo de confianza cuando se imputaron los datos supuestamente no recuperados en el meta-análisis, produciéndose una disminución del 39,3% en el valor del odds ratio medio  $[(2,032-1,233)/2,032 = 0,393]$ . De hecho, como muestran los intervalos de confianza, el odds ratio medio pasó de ser estadísticamente significativo con los datos observados a no serlo cuando se imputaron los datos perdidos. Además, el test de Egger alcanzó un resultado estadísticamente significativo ( $p = 0,002$ ). Por tanto, estos resultados indican la existencia de un serio problema de sesgo de publicación.



**Figura 15-B: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre la región codificante (exón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez excluido el estudio de Rujescu et al. (2009).**

**Tabla 10-B: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre la región codificante (exón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez excluido el estudio de Rujescu et al. (2009).**

Región codificante (exón)	$k$	$OR_+$	IC al 95%	
			$OR_i$	$OR_s$
Datos observados	12	2,032	1,105	3,737
Datos observados + imputados	12 + 6	1,233	0,627	2,421
<b>Test de Egger</b>	$b_0 = 1,347; t(10) = 4,143, p = .002$			

$k$  = número de estudios.  $OR_+$  = odds ratio medio asumiendo un modelo de efectos aleatorios.  $OR_i$  y  $OR_s$  = límites confidenciales inferior y superior del intervalo de confianza al 95% en torno al odds ratio medio.  $b_0$  = intercepción del modelo de regresión simple entre tamaño del efecto y precisión.

#### D.4.e) Región no codificante (intrón) del *NRXN1*

Comprobamos que en la Figura 16-A, el método trim-and-fill de imputación de datos perdidos añadió 2 tamaños del efecto para simetrizar el aspecto del funnel plot. La tabla 11-A muestra cómo cambió el odds ratio promedio y su intervalo de confianza cuando se imputaron los datos supuestamente no recuperados en el meta-análisis, produciéndose una disminución del 8,2% en el valor del odds ratio medio [(2,017-1,852)/2,017 = 0,082]. El test de Egger no alcanzó un resultado estadísticamente significativo ( $p = 0,189$ ). Al no ser significativo el test de Egger y ser inferior al 10% la reducción del odds ratio medio al imputar dos datos perdidos, podemos descartar en este caso el sesgo de publicación como una amenaza seria contra la validez de los resultados.

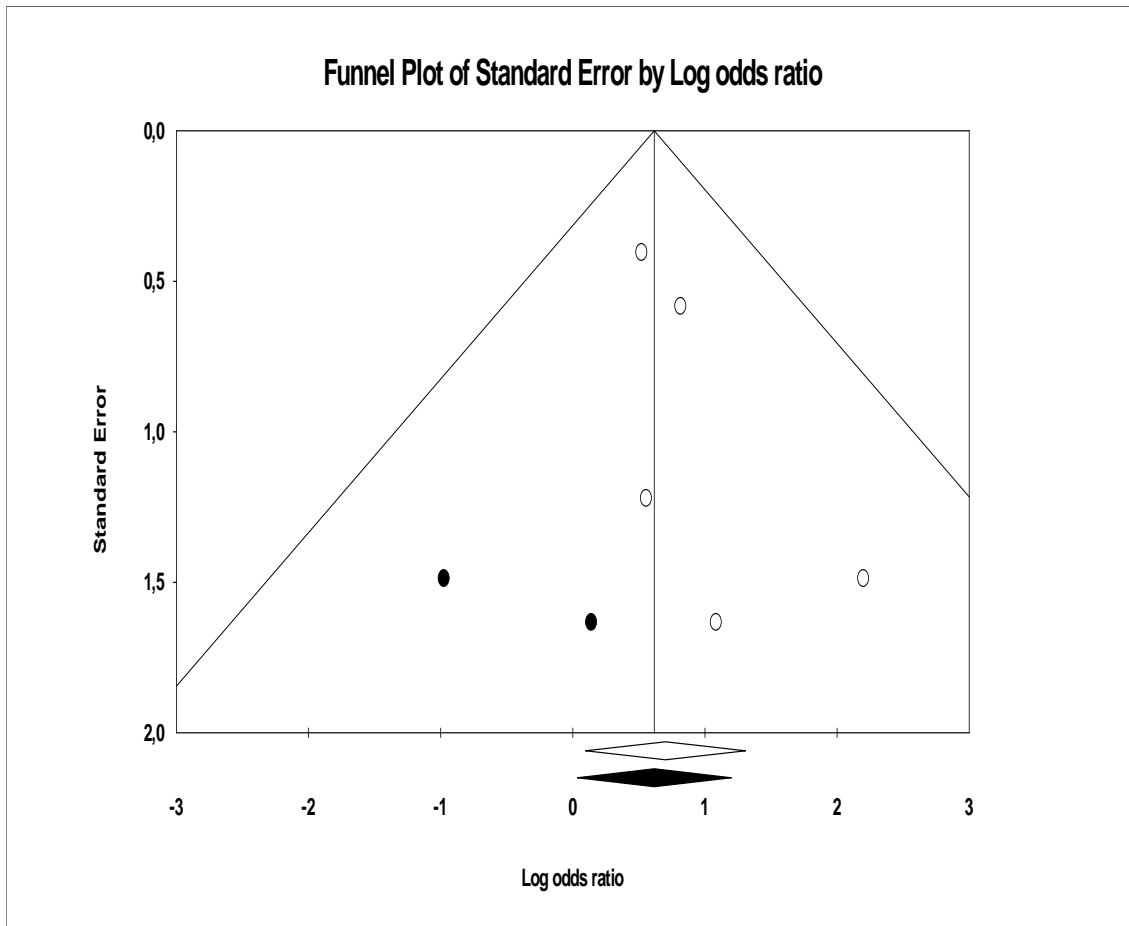


Figura 16-A: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre la región no codificante (intrón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP).

Tabla 11-A: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre la región no codificante (intrón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP).

Región no codificante (intrón)	$k$	$OR_+$	IC al 95%	
			$OR_i$	$OR_s$
Datos observados	5	2,017	1,100	3,698
Datos observados + imputados	5 + 2	1,852	1,033	3,320
<b>Test de Egger</b>		$b_0 = 0,719; t(3) = 1,695, p = .189$		

$k$  = número de estudios.  $OR_+$  = odds ratio medio asumiendo un modelo de efectos aleatorios.  $OR_i$  y  $OR_s$  = límites confidenciales inferior y superior del intervalo de confianza al 95% en torno al odds ratio medio.  $b_0$  = intercepción del modelo de regresión simple entre tamaño del efecto y precisión.

La Figura 16-B y la Tabla 11-B presentan los resultados de los análisis del sesgo de publicación cuando se excluyó el estudio de Rujescu et al. (2009). Como muestra la Figura 16-B, el método trim-and-fill de imputación de datos perdidos añadió 2 tamaños del efecto para simetrizar el aspecto del funnel plot. La Tabla 11-B muestra cómo cambió el odds ratio promedio y su intervalo de confianza cuando se imputaron los datos supuestamente no recuperados en el meta-análisis, produciéndose una disminución del 15,9% en el valor del odds ratio medio  $[(2,572-2,163)/2,572 = 0,159]$ . De hecho, como muestran los intervalos de confianza, el odds ratio medio pasó de ser estadísticamente significativo con los datos observados a no serlo cuando se imputaron los datos perdidos. El test de Egger no alcanzó un resultado estadísticamente significativo ( $p = 0,484$ ). Aunque el test de Egger no fue significativo, el hecho de que el odds ratio medio se reduzca en un 15,9% es indicativo de la presencia de sesgo de publicación.

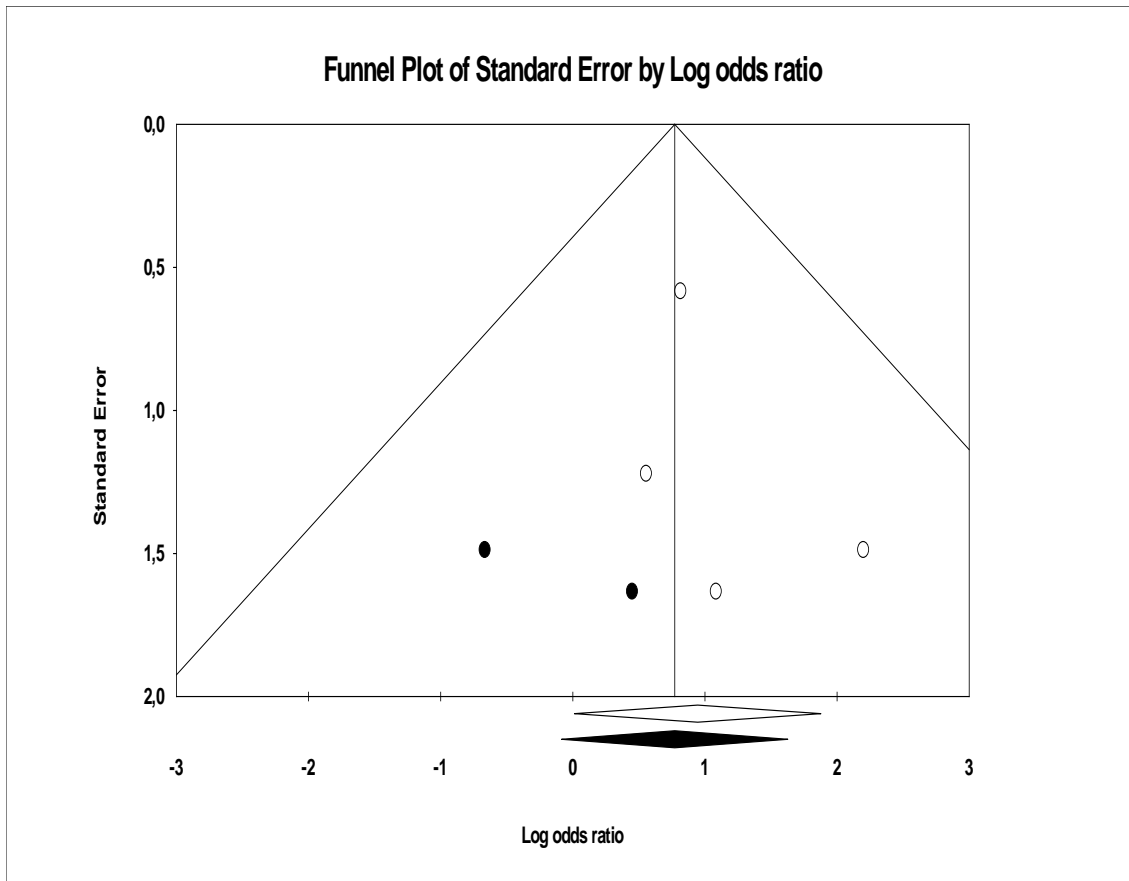


Figura 16-B: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre la región no codificante (intrón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez excluido el estudio de Rujescu et al. (2009).

Tabla 11-B: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre la región no codificante (intrón) y los trastornos del espectro psicótico (TEP) una vez excluido el estudio de Rujescu et al. (2009).

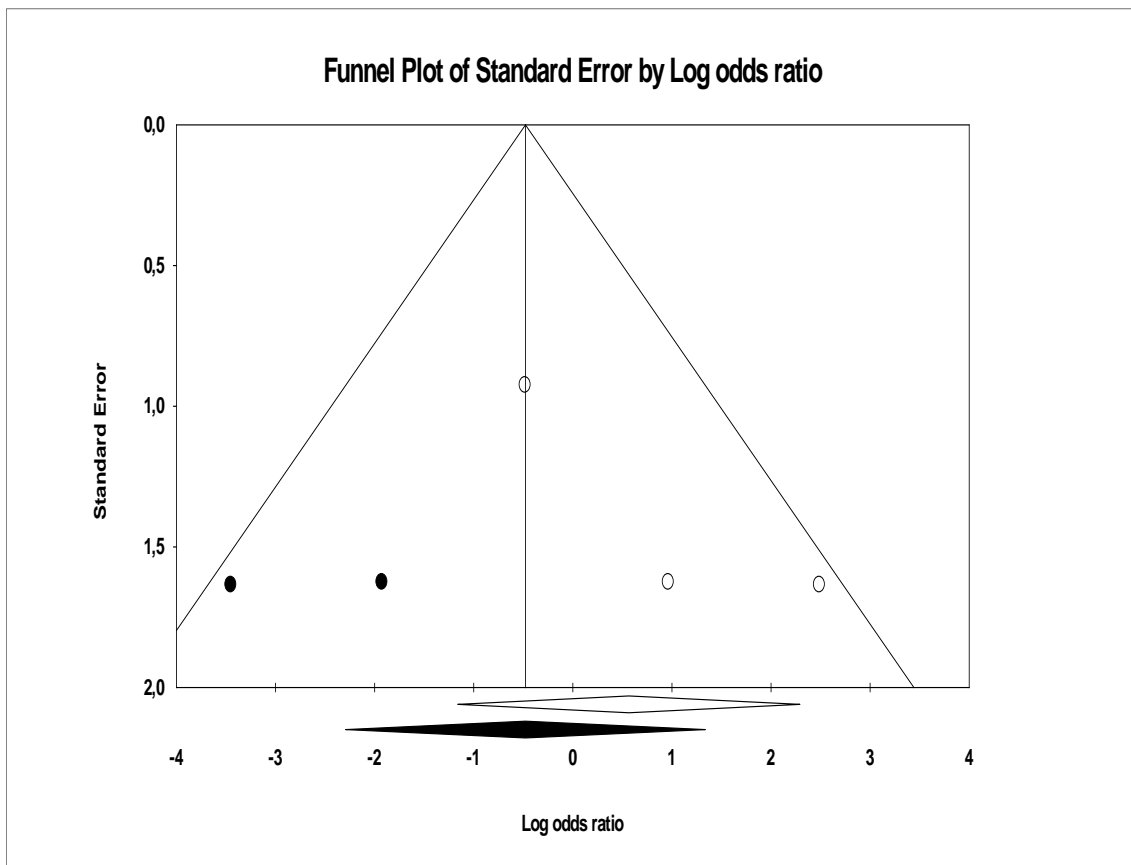
Región no codificante (intrón)	$k$	$OR_+$	IC al 95%	
			$OR_i$	$OR_s$
Datos observados	4	2,572	1,011	6,541
Datos observados + imputados	4 + 2	2,163	0,918	5,095
<b>Test de Egger</b>		$b_0 = 0,570; t(2) = 0,853, p = .484$		

$k$  = número de estudios.  $OR_+$  = odds ratio medio asumiendo un modelo de efectos aleatorios.  $OR_i$  y  $OR_s$  = límites confidenciales inferior y superior del intervalo de confianza al 95% en torno al odds ratio medio.  $b_0$  = intercepción del modelo de regresión simple entre tamaño del efecto y precisión.



#### D.4.f) Región promotora del *NRXNI*

Como muestra la Figura 17, el método trim-and-fill de imputación de datos perdidos añadió 2 tamaños del efecto para simetrizar el aspecto del funnel plot. La tabla 12 muestra cómo cambió el odds ratio promedio y su intervalo de confianza cuando se imputaron los datos supuestamente no recuperados en el meta-análisis, produciéndose una disminución del 64,8% en el valor del odds ratio medio  $[(1,760-0,620)/1,760 = 0,648]$ . El test de Egger no alcanzó un resultado estadísticamente significativo ( $p = 0,260$ ). Aunque el test de Egger no alcanzó la significación estadística, la drástica reducción del 64,8% del odds ratio medio es indicativo de la presencia de sesgo de publicación.



**Figura 17: Funnel plot con la técnica trim-and-fill de imputación de datos perdidos para el meta-análisis sobre la relación entre la región promotora y los trastornos del espectro psicótico (TEP).**

Tabla 12: Resultados de aplicar el método trim-and fill de imputación de datos perdidos y del test de Egger al meta-análisis sobre la relación entre la región promotora y los trastornos del espectro psicótico (TEP).

Región promotora	$k$	$OR_+$	IC al 95%	
			$OR_i$	$OR_s$
Datos observados	3	1,760	0,313	9,898
Datos observados + imputados	3 + 2	0,620	0,101	3,806
<b>Test de Egger</b>	$b_0 = 3,137; t(1) = 2,306, p = .260$			

$k$  = número de estudios.  $OR_+$  = odds ratio medio asumiendo un modelo de efectos aleatorios.  $OR_i$  y  $OR_s$  = límites confidenciales inferior y superior del intervalo de confianza al 95% en torno al odds ratio medio.  $b_0$  = intercepción del modelo de regresión simple entre tamaño del efecto y precisión.

## E. DISCUSIÓN

---

## E. DISCUSIÓN

Hasta donde llega nuestro conocimiento, éste es el primer meta-análisis realizado que analiza la asociación entre las variantes del gen *NRXNI* y los TEP. Hemos obtenido odds ratios globales comprendidas entre 1,16 - 4,39 y los resultados sugieren una asociación estadísticamente significativa para las deleciones, la región codificante (exón) y la región no codificante (intrón). Sin embargo, no se ha demostrado una asociación para el resto de alteraciones o áreas genéticas (inserciones, duplicaciones, variantes genéticas y área promotora).

Las deleciones del *NRXNI* se asociaron de forma significativa con los trastornos psicóticos, con una OR = 3,36 (IC 95% = 2,07, 5,46). Lo mismo sucede con la región codificante o exónica del gen (OR = 3,53; IC 95% = 1,58, 7,86) y la región no codificante o intrónica (OR = 2,02; IC 95% = 1,10, 3,69). Es importante tener en cuenta que, probablemente, los estudios individuales con tamaños muestrales pequeños no tienen la potencia estadística suficiente para detectar el efecto que se ha encontrado en este meta-análisis.

Existen múltiples estudios que han asociado las deleciones del *NRXNI* con la esquizofrenia (Kirov, 2009; Walsh, 2008), además de con otros trastornos relacionados con la maduración cerebral, como pueden ser la discapacidad intelectual, el retraso en el lenguaje, la epilepsia o el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (Ching, 2010; Wisniowiecka-Kowalnik, 2010; Zahir, 2008; Zweier, 2009). A los casos mencionados que muestran una expresividad fenotípica variable con una penetrancia incompleta, hay que añadir que se ha publicado un complejo de heterocigosidad de deficiencias del mismo gen *NRXNI* en pacientes con discapacidad intelectual, retraso en el neurodesarrollo y epilepsia (Harrison, 2011; Zweier, 2009) y, a diferencia de las deleciones recurrentes mediadas por repeticiones terminales, las deleciones de este gen varían en tamaño y ubicación (Soysal, 2011). Por lo tanto, la observación del frecuente reordenamiento del *NRXNI* sugiere que es particularmente susceptible a los mecanismos mutacionales que impulsan al desequilibrio y predisponen a los individuos al riesgo de trastornos neuropsiquiátricos (Chen, 2013).

En lo que se refiere a los exones del *NRXNI*, se ha hallado asociación de la afectación de esta región con casos de esquizofrenia, con una prevalencia del 0,16%

(Kirov, 2009). Estudios como el de Curran y colegas (Curran, 2013) encuentran una prevalencia de deleciones en esta área del 0,17% en una cohorte de 10.397 pacientes con un amplio espectro de trastornos del neurodesarrollo. Por otro lado, Ching y colegas (Ching, 2010) han una marcada diferencia entre las prevalencias de las deleciones exónicas en la cohorte (n = 3.540) de pacientes con trastornos del neurodesarrollo (0,25%) y la cohorte (n = 51.939) de población sana (0,019%). Estos datos concuerdan con los hallazgos de nuestro estudio, en los que obtenemos para los pacientes afectados de TEP, una mayor prevalencia de afectación exónica (0,32%) respecto a las citadas, y una marcada diferencia con la prevalencia de afectación exónica en población sana (0,10%). A todo esto hay que añadir que la región intrónica del *NRXNI* está siendo progresivamente objeto de un mayor número de estudios tanto con trabajos de asociación con trastornos del neurodesarrollo como en investigación básica, con resultados favorecedores que tratan de esclarecer la función que cumple en el control del empalme genético (Iijima, 2011).

En cuanto a los resultados en los que no se ha hallado asociación estadísticamente significativa entre los TEP y el gen *NRXNI*, afectan a las duplicaciones (OR = 3,74), variantes genéticas o polimorfismos (OR = 1,16) y el área promotora (OR = 1,76). Al valorar estos resultados, comprobamos que estos análisis incluyen entre tres y cuatro estudios, por lo que concluimos que probablemente el pequeño número de estudios y el bajo tamaño muestral, imposibilita obtener suficiente potencia estadística para conseguir una asociación significativa ante probables tamaños del efecto esperables muy pequeños.

Los estudios de asociación publicados hasta la fecha, con patologías del neurodesarrollo y las duplicaciones e inserciones del *NRXNI*, han hallado que las mismas se dan en los trastornos del espectro autista (TEA) pero con estudios basados en series de casos o en la familia (Hedges, 2012; Wisniewiecka-Kowalnik, 2010). Sin embargo, el escaso número de estudios con tamaños muestrales pequeños hace difícil poder valorar el grado de asociación de forma adecuada. Por otro lado, en el caso de las variantes o polimorfismos del *NRXNI*, sí se han publicado resultados con múltiples anomalías genéticas que afectan al área postsináptica de las neuronas y regiones exónicas, en un número mayor de individuos afectados del TEA (Kim, 2008; Marshall, 2008).

La afectación y eliminación del área promotora y determinados exones del *NRXNI* se ha postulado que pueden producir la ausencia completa de transcritos de dicho gen basándose en los déficits del neurocomportamiento observados en ratones y la *Drosophila* con deficiencia del *NRXNI $\alpha$*  (Etherton, 2009; Zeng, 2007), y se ha asociado con casos de TEA (Duong, 2012; Kim, 2008). La involucración aparente del gen *NRXNI* con distintos trastornos del neurodesarrollo nos hacen plantearnos la cuestión de si las distintas situaciones clínicas (TEP, TEA, discapacidad intelectual...) son entidades distintas o más bien una forma de continuo de distintas disfunciones mentales (Reichelt, 2012). La esquizofrenia posee unas características que sugieren un supuesto solapamiento etiológico con el autismo, lo que incluye una tendencia al retraso en el desarrollo y afectación cognitiva (Murray, 2002), problemas del lenguaje y la comunicación, y un gran rango de anomalías físicas menores (Schiffman, 2002). Sin embargo, el inicio de los síntomas de la esquizofrenia surge habitualmente en la adolescencia y en el adulto joven, pero los síntomas del autismo se manifiestan en los tres primeros años de edad. La expresión variable del fenotipo es una característica de otras anomalías cromosómicas asociadas con un mayor riesgo de esquizofrenia y de trastornos psicóticos (Blackwood, 2001). Una disfunción en la circuitería neuronal está implicada tanto en la esquizofrenia como en el autismo, por lo que probablemente una transmisión sináptica aberrante es la que tiene un papel importante en ambos desórdenes. Las neurexinas están implicadas en la activación e inhibición de la diferenciación sináptica, por lo que la afectación o disfunción de dichas proteínas presinápticas están potencialmente involucradas en la etiología de las anomalías del neurodesarrollo que contribuyen a la esquizofrenia y el autismo (Reichelt, 2012).

Al valorar los datos obtenidos en nuestro meta-análisis y la bibliografía publicada en relación a este tema, vemos que Dabell y colegas (Dabell, 2013) publicaron una revisión de cohortes con un elevado número de pacientes con esquizofrenia (n = 19.944), con una prevalencia de deleciones en los exones de un 0,22%. En nuestro meta-análisis, la prevalencia de deleciones en el *NRXNI* en pacientes con TEP (n = 25.208) fue de 0,23% y la prevalencia de alteraciones exónicas en el *NRXNI* en pacientes con TEP fue de 0,32%. Como podemos comprobar, estos datos son similares a los publicados en el 2013 por Dabell, pero con cifras de prevalencia algo superiores, probablemente debido a nuestro mayor tamaño de la muestra. Por otro lado,

en el mismo artículo de Dabell concluyen que la expresión de dichas alteraciones en el fenotipo humano es variable.

Llegados a este punto, es fundamental comprender la complejidad de los trastornos del espectro psicótico en cuanto a su clasificación nosológica. La respuesta a la publicación del DSM-5 de la APA (American Psychiatric Association, 2014) parece indicar que el mundo de la ciencia de la Salud Mental se halla en un proceso de transformación. T. Insel, director de la institución más poderosa del mundo que financia a la neurociencia, el National Institute of Mental Health (NIMH) de Estados Unidos, concretó una de las principales críticas a las clasificaciones diagnósticas imperantes. Según él, la investigación basada en el DSM no había logrado transferirse a mejoras tangibles en la atención a los pacientes (Insel, 2016). En un blog en que introduce el Modelo de Criterios de Dominios de Investigación (RDoC) alternativo del NIMH, Insel indicó que “el NIMH reorientará su investigación y la apartará de las categorías del DSM” (Insel, 2016). Las partes enfrentadas han aclarado que el DSM sigue siendo una base útil de investigación clínica (Insel & Lieberman, 2016).

A lo mencionado previamente, habría que añadir que, probablemente, la susceptibilidad de diversos genes está asociada a los trastornos del espectro psicótico. Se ha sugerido la posibilidad de una expresión variable o penetrancia reducida junto a otros factores genéticos o ambientales que pueden influir en el fenotipo expresado de los trastornos neurocognitivos (incluida la psicosis), por lo que el grado de complejidad es grande (Dabell, 2013; Duong, 2012; Gregor, 2011). Según los modelos propuestos por el Consorcio de Psiquiatría (Psychiatric GWAS Consortium Steering Committee., 2009) para aclarar la asociación de las variantes genéticas con los trastornos complejos, y a tenor de los resultados obtenidos en nuestro estudio, el modelo de “enfermedad común/variante común” (CDCV) podría ser el que más se ajusta a la asociación entre los TEP y las variantes del gen *NRXNI*, según el cual las variantes genéticas comunes relativas (a menudo > 5%) en la población, deberían conferir un riesgo o efecto relativo menor o medio (OR cercanas al valor 1).

En relación a la calidad de los estudios incluidos en el presente meta-análisis, ninguno de ellos ha seguido las recomendaciones de la guía STREGA. Actualmente, existe un interés creciente en la elaboración de guías para la presentación de resultados, que provienen de estudios con distintos diseños, con el fin de mejorar la calidad de los

trabajos de investigación. Las recomendaciones del artículo “Fortalecimiento de la publicación de los estudios de asociación genética” (The STrengthening the REporting of Genetic Association studies, STREGA) fueron publicadas en 2009 (Little, 2009) como una extensión del artículo “Mejorar la comunicación de estudios observacionales en Epidemiología” (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) (von Elm, 2007; von Elm, 2014) y fueron diseñadas específicamente para mejorar la transparencia de los artículos de asociación genética. Es interesante comprobar que ninguno de los doce estudios publicados desde entonces (Gauthier, 2011; Ikeda, 2010; Kenny, 2014; Levinson, 2011; Magri, 2010; Muhleisen, 2011; Rees, 2014; Shah, 2010; Stewart, 2011; Todarello, 2014 398; Van Den Bossche, 2012; Ye, 2012) hayan seguido estas recomendaciones. En este sentido, en este meta-análisis se han analizado en los estudios incluidos un total de 12 criterios de calidad metodológica (Tabla 5), con el fin de valorar la calidad de los mismos y basándose en las recomendaciones STREGA, teniendo en cuenta las fortalezas de esta guía: se basa en la guía previa de elaboración de estudios observacionales (STROBE) (von Elm, 2008), se ha desarrollado por un equipo multidisciplinar y ofrece un claro razonamiento de sus planteamientos (Little, 2009). Estos argumentos justifican el uso de esta guía en nuestro meta-análisis.

El estudio realizado presenta algunas limitaciones que es necesario describir. Primero, el bajo número de estudios publicados de TEP y duplicaciones, variantes genéticas, inserciones y área promotora del gen *NRXN1* limita la capacidad de generalización de los resultados. Segundo, se ha detectado un sesgo de publicación en algunos de los análisis realizados (deleciones, región exónica y promotora). Dada la naturaleza del sesgo de publicación y de las pruebas desarrolladas para su detección, estos resultados sugieren que los resultados obtenidos han de ser tomados con precaución, ya que podrían estar sobreestimando la verdadera asociación objeto de estudio. Es por ello, que los odds ratios obtenidos tras aplicar el método trim-and-fill ofrecen una estimación más conservadora, y menos propensa a estar afectada de sesgo de publicación, que los odds ratios obtenidos con los estudios originales incluidos en nuestro meta-análisis. Es muy importante concienciar a los investigadores y editores de las revistas científicas de la importancia que, para el avance del conocimiento científico, tiene publicar todos los resultados de las investigaciones realizadas, independientemente de si son o no estadísticamente significativos.



Para concluir, las neurexinas  $\alpha$  son moléculas de adhesión celular esenciales para un correcto ensamblaje de la sinapsis en una unidad funcional total, y no sólo para la formación inicial de la misma (Kattenstroth et al., 2004). Vemos que la conectividad sináptica aberrante es una característica de la neuropatología de la esquizofrenia y los trastornos psicóticos (Stephan, Baldeweg, & Friston, 2006) y está documentado que tanto las deleciones como otras mutaciones y disrupciones del gen *NRXN1* están asociadas con la susceptibilidad para estos desórdenes neurocognitivos (Duong et al., 2012; Walsh et al., 2008). Por lo tanto, es importante desarrollar un mayor esfuerzo por el estudio del gen *NRXN1*, en forma de investigación básica que permita esclarecer mejor los mecanismos mediante los que interviene en la funcionalidad sináptica, e investigación clínica, mediante un mayor número de estudios que aclaren el papel que cumple en la expresión del fenotipo psicótico y otros trastornos psiquiátricos.

## F. CONCLUSIONES

---

## F. CONCLUSIONES

1. Las deleciones del *NRXNI* se asociación de forma significativa con los trastornos psicóticos con una OR = 3,36.
2. En el caso de las duplicaciones del *NRXNI*, no obtuvimos asociación significativa con los TEP.
3. No fue posible realizar ningún meta-análisis para las inserciones del *NRXNI* debido a que sólo obtuvimos resultados para un estudio.
4. En las variantes genéticas del *NRXNI*, tampoco obtuvimos asociación significativa con los TEP.
5. La región exónica del gen sí que se asoció a los trastornos psicóticos de forma significativa, con una OR = 3,53.
6. La región intrónica del *NRXNI* también se asoció de forma significativa con los TEP, con una OR = 2,02.
7. No obtuvimos asociación significativa con los TEP en cuanto al área promotora del gen.
8. En el análisis de sensibilidad, comprobamos que el estudio de Rujescu et al (2009) repercute únicamente en el resultado del meta-análisis del área exónica.
9. Ninguno de los criterios de calidad actúa en forma de variable moderadora que pudiera condicionar el resultado obtenido en las medidas de asociación.
10. Se ha detectado un sesgo de publicación en los análisis realizados para las deleciones, región exónica y promotora.

## G. REFERENCIAS

---

## G. REFERENCIAS

“Las referencias precedidas por un asterisco se corresponden con los estudios incluidos en el meta-análisis.”

- Abbott, L. F. & Regehr, W. G. (2004). Synaptic computation. *Nature*, 431, 796-803.
- Abel, K. M., O'Keane, V., & Murray, R. M. (1996). Enhancement of the prolactin response to d-fenfluramine in drug-naive schizophrenic patients. *British Journal of Psychiatry*, 168, 57-60.
- Adams, C. E. & Stevens, K. E. (2007). Evidence for a role of nicotinic acetylcholine receptors in schizophrenia. *Frontiers in Bioscience*, 12, 4755-4772.
- Adityanjee, Aderibigbe, Y. A., Theodoridis, D., & Vieweg, V. R. (1999). Dementia praecox to schizophrenia: the first 100 years. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 53, 437-448.
- Aguilar, E. J., Sanjuan, J., Garcia-Marti, G., Lull, J. J., & Robles, M. (2008). MR and genetics in schizophrenia: focus on auditory hallucinations. *European Journal of Radiology*, 67, 434-439.
- Akbarian, S., Ruelh, M. G., Bliven, E., Luiz, L. A., Peranelli, A. C., Baker, S. P. et al. (2005). Chromatin alterations associated with down-regulated metabolic gene expression in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, 62, 829-840.
- Alexander, F. G. & Selesnick, S. T. (1966). *The history of psychiatry: an evaluation of psychiatric thought and practice from prehistoric times to the present*. New York: Harper and Row.
- Allen, A. J., Griss, M. E., Folley, B. S., Hawkins, K. A., & Pearlson, G. D. (2009). Endophenotypes in schizophrenia: a selective review. *Schizophrenia Research*, 109, 24-37.
- Allen, N. C., Bagade, S., McQueen, M. B., Ioannidis, J. P., Kavvoura, F. K., Khoury, M. J. et al. (2008). Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nature Genetics*, 40, 827-834.
- American Psychiatric Association (1952). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. (1<sup>a</sup> ed.) Washington, DC: APA.
- American Psychiatric Association (1980). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. (3<sup>a</sup> ed.) Washington, DC: APA.
- American Psychiatric Association (1987). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. (3<sup>a</sup> rev. ed.) Washington, DC: APA.
- American Psychiatric Association (1994). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. (4<sup>a</sup> ed.) Washington, DC: APA.
- American Psychiatric Association (2002). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. (4<sup>a</sup> rev. ed.) Washington, DC: APA.
- American Psychiatric Association (2014). *DSM-5. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*. Editorial Médica Panamericana.
- American Psychiatric Association (1968). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. (2<sup>a</sup> ed.) Washington, DC: APA.
- Anderson, L. & Seilhamer, J. (1997). A comparison of selected mRNA and protein abundances in human liver. *Electrophoresis*, 18, 533-537.
- Andreasen, N. C. & Carpenter, W. T., Jr. (1993). Diagnosis and classification of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 19, 199-214.
- Andreasen, N. C. (1997). The evolving concept of schizophrenia: from Kraepelin to the present and future. *Schizophrenia Research*, 28, 105-109.
- Andreasson, S., Allebeck, P., Engstrom, A., & Rydberg, U. (1987). Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of Swedish conscripts. *Lancet*, 2, 1483-1486.
- Aoto, J., Martinelli, D. C., Malenka, R. C., Tabuchi, K., & Sudhof, T. C. (2013). Presynaptic neurexin-3 alternative splicing trans-synaptically controls postsynaptic AMPA receptor trafficking. *Cell*, 154, 75-88.

- APA (1997). Practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia. American Psychiatric Association. *American Journal of Psychiatry*, 154, 1-63.
- Arac, D., Boucard, A. A., Ozkan, E., Strop, P., Newell, E., Sudhof, T. C. et al. (2007). Structures of neuroligin-1 and the neuroligin-1/neurexin-1 beta complex reveal specific protein-protein and protein-Ca<sup>2+</sup> interactions. *Neuron*, 56, 992-1003.
- Arikath, J. & Reichardt, L. F. (2008). Cadherins and catenins at synapses: roles in synaptogenesis and synaptic plasticity. *Trends in Neurosciences*, 31, 487-494.
- Arinami, T., Gao, M., Hamaguchi, H., & Toru, M. (1997). A functional polymorphism in the promoter region of the dopamine D2 receptor gene is associated with schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, 6, 577-582.
- Arranz, M. J., Collier, D. A., Munro, J., Sham, P., Kirov, G., Sodhi, M. et al. (1996). Analysis of a structural polymorphism in the 5-HT<sub>2A</sub> receptor and clinical response to clozapine. *Neuroscience Letters*, 217, 177-178.
- Ashcroft, G. W., Blackwood, G. W., Besson, J. A., Palomo, T., & Waring, H. L. (1981). Positive and negative schizophrenic symptoms and the role of dopamine. *British Journal of Psychiatry*, 138, 268-269.
- Badner, J. A. & Gershon, E. S. (2002). Meta-analysis of whole-genome linkage scans of bipolar disorder and schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 7, 405-411.
- Baldomero, E., Baca, C., Cercós, L., Varela, C., Riesgo, Y., & Roca, M. (2006). *Actas Españolas de Psiquiatría*. (vols. XXXIV).
- Baldwin, P., Browne, D., Scully, P. J., Quinn, J. F., Morgan, M. G., Kinsella, A. et al. (2005). Epidemiology of first-episode psychosis: illustrating the challenges across diagnostic boundaries through the Cavan-Monaghan study at 8 years. *Schizophrenia Bulletin*, 31, 624-638.
- Bargmann, C. I. & Marder, E. (2013). From the connectome to brain function. *Nature Methods*, 10, 483-490.
- Barker, D. J. (1989). Rise and fall of Western diseases. *Nature*, 338, 371-372.
- Barrett, J. H. & Teare, M. D. (2011). Linkage analysis. *Methods in Molecular Biology*, 760, 19-33.
- Bassett, A. S., McGillivray, B. C., Jones, B. D., & Pantzar, J. T. (1988). Partial trisomy chromosome 5 cosegregating with schizophrenia. *Lancet*, 1, 799-801.
- Bassett, A. S. & Chow, E. W. (2008). Schizophrenia and 22q11.2 deletion syndrome. *Current Psychiatry Reports*, 10, 148-157.
- Bear, M. F., Press, W. A., & Connors, B. W. (1992). Long-term potentiation in slices of kitten visual cortex and the effects of NMDA receptor blockade. *Journal of Neurophysiology*, 67, 841-851.
- Bearden, C. E., Rosso, I. M., Hollister, J. M., Sanchez, L. E., Hadley, T., & Cannon, T. D. (2000). A prospective cohort study of childhood behavioral deviance and language abnormalities as predictors of adult schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 26, 395-410.
- Belloch, A., Sandín, B., & Ramos, F. (2008). *Manual de Psicopatología*. (Revisada ed.) S.A. MCGRAW-HILL / INTERAMERICANA DE ESPAÑA.
- Benes, F. M. (2007). Searching for unique endophenotypes for schizophrenia and bipolar disorder within neural circuits and their molecular regulatory mechanisms. *Schizophrenia Bulletin*, 33, 932-936.
- Bhugra, D., Leff, J., Mallett, R., Der, G., Corridan, B., & Rudge, S. (1997). Incidence and outcome of schizophrenia in whites, African-Caribbeans and Asians in London. *Psychological Medicine*, 27, 791-798.
- Binder, M. (2009). Neurexins. In *Encyclopedia of Neuroscience* (pp. 2607). Berlin Heidelberg: Springer.
- Blackwood, D. H., Fordyce, A., Walker, M. T., St Clair, D. M., Porteous, D. J., & Muir, W. J. (2001). Schizophrenia and affective disorders--cosegregation with a translocation at chromosome 1q42 that directly disrupts brain-expressed genes: clinical and P300 findings in a family. *American Journal of Human Genetics*, 69, 428-433.

- Bodmer, W. & Bonilla, C. (2008). Common and rare variants in multifactorial susceptibility to common diseases. *Nature Genetics*, 40, 695-701.
- Borenstein, M., Hedges, L., Higgins, J., & Rothstein, H. (2005). *Comprehensive Meta-Analysis (Version 2)* [Computer software]. Biostat.
- Boucard, A. A., Chubykin, A. A., Comoletti, D., Taylor, P., & Sudhof, T. C. (2005). A splice code for trans-synaptic cell adhesion mediated by binding of neuroligin 1 to alpha- and beta-neurexins. *Neuron*, 48, 229-236.
- Bradley, W. E., Raelson, J. V., Dubois, D. Y., Godin, E., Fournier, H., Prive, C. et al. (2010). Hotspots of large rare deletions in the human genome. *PLoS One*, 5, e9401.
- Braff, D. L., Freedman, R., Schork, N. J., & Gottesman, I. I. (2007). Deconstructing schizophrenia: an overview of the use of endophenotypes in order to understand a complex disorder. *Schizophrenia Bulletin*, 33, 21-32.
- Bray, M., Higgins, J., Ioannidis, J., Khoury, M., & Little, J. (2006). *The HuGENet TM HUGE Review Handbook, version 1.0*.
- Breen, G., Brown, J., Maude, S., Fox, H., Collier, D., Li, T. et al. (1999). -141 C del/ins polymorphism of the dopamine receptor 2 gene is associated with schizophrenia in a British population. *American Journal of Medical Genetics*, 88, 407-410.
- Brune, M. (2004). Schizophrenia-an evolutionary enigma? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28, 41-53.
- Brzustowicz, L. M., Honer, W. G., Chow, E. W., Little, D., Hogan, J., Hodgkinson, K. et al. (1999). Linkage of familial schizophrenia to chromosome 13q32. *American Journal of Human Genetics*, 65, 1096-1103.
- Brzustowicz, L. M., Hodgkinson, K. A., Chow, E. W., Honer, W. G., & Bassett, A. S. (2000). Location of a major susceptibility locus for familial schizophrenia on chromosome 1q21-q22. *Science*, 288, 678-682.
- Bull, C. B. (1999). *Diagnosis of Schizophrenia: A Review*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Burns, J. K. (2004). An evolutionary theory of schizophrenia: cortical connectivity, metarepresentation, and the social brain. *Journal of Behavioral and Brain Science*, 27, 831-855.
- Burns, J. K. (2009). Reconciling 'the new epidemiology' with an evolutionary genetic basis for schizophrenia. *Medical Hypotheses*, 72, 353-358.
- Cannon, M., Kendell, R., Susser, E., & Jones, P. (2003). Prenatal and perinatal risk factors for schizophrenia. In R.M.Murray, P. B. Jones, E. Susser, J. van Os, & M. Cannon (Eds.), *The epidemiology of schizophrenia* (pp. 74-99). Cambridge: CUP.
- Cannon, T. D., Zorrilla, L. E., Shtasel, D., Gur, R. E., Gur, R. C., Marco, E. J. et al. (1994). Neuropsychological functioning in siblings discordant for schizophrenia and healthy volunteers. *Archives of General Psychiatry*, 51, 651-661.
- Cannon, T. D., Huttunen, M. O., Lonnqvist, J., Tuulio-Henriksson, A., Pirkola, T., Glahn, D. et al. (2000). The inheritance of neuropsychological dysfunction in twins discordant for schizophrenia. *American Journal of Human Genetics*, 67, 369-382.
- Carlson, C. S., Eberle, M. A., Kruglyak, L., & Nickerson, D. A. (2004). Mapping complex disease loci in whole-genome association studies. *Nature*, 429, 446-452.
- Carlsson, A. & Lindqvist, M. (1963). Effect of chlorpromazine or haloperidol on formation of 3-methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain. *Acta Pharmacologica et Toxicologica(Copenh)*, 20, 140-144.
- Carrera, N., Sanjuan, J., Molto, M. D., Carracedo, A., & Costas, J. (2009). Recent adaptive selection at MAOB and ancestral susceptibility to schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics. B Neuropsychiatric genetics*, 150B, 369-374.
- Castegna, A., Aksenov, M., Aksenova, M., Thongboonkerd, V., Klein, J. B., Pierce, W. M. et al. (2002). Proteomic identification of oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease brain. Part

- I: creatine kinase BB, glutamine synthase, and ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L-1. *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 562-571.
- Castillo, R. J. (1997). *Culture & mental illness: A client-centered approach*. (vols. xvii) Belmont, CA, USA: Thomson Brooks/Cole Publishing Co.
- Chan, S. W. (2011). Global perspective of burden of family caregivers for persons with schizophrenia. *Archives of Psychiatric Nursing*, 25, 339-349.
- Chen, X., Liu, H., Shim, A. H., Focia, P. J., & He, X. (2008). Structural basis for synaptic adhesion mediated by neuroligin-neurexin interactions. *Nature Structural & Molecular Biology*, 15, 50-56.
- Chen, X., Shen, Y., Zhang, F., Chiang, C., Pillalamarri, V., Blumenthal, I. et al. (2013). Molecular analysis of a deletion hotspot in the NRXN1 region reveals the involvement of short inverted repeats in deletion CNVs. *American Journal of Human Genetics*, 92, 375-386.
- Chien, W. T., Chan, S. W., & Morrissey, J. (2007). The perceived burden among Chinese family caregivers of people with schizophrenia. *Journal of Clinical Nursing*, 16, 1151-1161.
- Chih, B., Gollan, L., & Scheiffele, P. (2006). Alternative splicing controls selective trans-synaptic interactions of the neuroligin-neurexin complex. *Neuron*, 51, 171-178.
- Ching, M. S., Shen, Y., Tan, W. H., Jeste, S. S., Morrow, E. M., Chen, X. et al. (2010). Deletions of NRXN1 (neurexin-1) predispose to a wide spectrum of developmental disorders. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics*, 153B, 937-947.
- Ching, M. S., Shen, Y., Tan, W. H., Jeste, S. S., Morrow, E. M., Chen, X. et al. (2010). Deletions of NRXN1 (neurexin-1) predispose to a wide spectrum of developmental disorders. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics*, 153B, 937-947.
- Chowdari, K. V., Mirnics, K., Semwal, P., Wood, J., Lawrence, E., Bhatia, T. et al. (2002). Association and linkage analyses of RGS4 polymorphisms in schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, 11, 1373-1380.
- Chubykin, A. A., Liu, X., Comoletti, D., Tsigelny, I., Taylor, P., & Sudhof, T. C. (2005). Dissection of synapse induction by neuroligins: effect of a neuroligin mutation associated with autism. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 22365-22374.
- Chubykin, A. A., Atasoy, D., Etherton, M. R., Brose, N., Kavalali, E. T., Gibson, J. R. et al. (2007). Activity-dependent validation of excitatory versus inhibitory synapses by neuroligin-1 versus neuroligin-2. *Neuron*, 54, 919-931.
- Ciampi, L. (1980). The natural history of schizophrenia in the long term. *British Journal of Psychiatry*, 136, 413-420.
- Costa, E., Chen, Y., Davis, J., Dong, E., Noh, J. S., Tremolizzo, L. et al. (2002). REELIN and schizophrenia: a disease at the interface of the genome and the epigenome. *Molecular Interventions*, 2, 47-57.
- Cowan, W. M., Südhof, T. C., Stevens, C. F., & & editors (2000). *Synapses*. Johns Hopkins University Press.
- Cowan, W. M., Kopnisky, K. L., & Hyman, S. E. (2002). The human genome project and its impact on psychiatry. *Annual Review of Neuroscience*, 25, 1-50.
- Coyle, J. T., Tsai, G., & Goff, D. (2003). Converging evidence of NMDA receptor hypofunction in the pathophysiology of schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1003, 318-327.
- Coyle, J. T. (2006). Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis. *Cell Molecular Neurobiology*, 26, 365-384.
- Craig, A. M. & Kang, Y. (2007). Neurexin-neuroligin signaling in synapse development. *Current Opinion in Neurobiology*, 17, 43-52.
- Crespi, B., Summers, K., & Dorus, S. (2007). Adaptive evolution of genes underlying schizophrenia. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, 2801-2810.



- Cristino, A. S., Williams, S. M., Hawi, Z., An, J. Y., Bellgrove, M. A., Schwartz, C. E. et al. (2014). Neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders represent an interconnected molecular system. *Molecular Psychiatry*, *19*, 294-301.
- Cropley, V. L., Fujita, M., Innis, R. B., & Nathan, P. J. (2006). Molecular imaging of the dopaminergic system and its association with human cognitive function. *Biological Psychiatry*, *59*, 898-907.
- Crow, T. J. (1980). Molecular pathology of schizophrenia: more than one disease process? *British Medical Journal*, *280*, 66-68.
- Crow, T. J. (1992). X-Y linkage and schizophrenia. *British Medical Journal*, *305*, 958.
- Crow, T. J. (1995). A continuum of psychosis, one human gene, and not much else--the case for homogeneity. *Schizophrenia Research*, *17*, 135-145.
- Crow, T. J. (1995). A theory of the evolutionary origins of psychosis. *European Neuropsychopharmacology*, *5 Suppl*, 59-63.
- Crow, T. J. (1995). A Darwinian approach to the origins of psychosis. *British Journal of Psychiatry*, *167*, 12-25.
- Crow, T. J. (1997). Current status of linkage for schizophrenia: polygenes of vanishingly small effect or multiple false positives? *American Journal of Medical Genetics.*, *74*, 99-103.
- Crow, T. J. (1999). Twin studies of psychosis and the genetics of cerebral asymmetry. *British Journal of Psychiatry*, *175*, 399-401.
- Crow, T. J. (1999). Commentary on Annett, Yeo et al., Klar, Saugstad and Orr: cerebral asymmetry, language and psychosis--the case for a Homo sapiens-specific sex-linked gene for brain growth. *Schizophrenia Research*, *39*, 219-231.
- Crow, T. J. (2000). Schizophrenia as the price that homo sapiens pays for language: a resolution of the central paradox in the origin of the species. *Brain Research Reviews*, *31*, 118-129.
- Crow, T. J. (2000). El fracaso de la hipótesis dopaminérgica y sus consecuencias sobre la futura dirección a seguir en la investigación de la psicosis. In T.Palomo, R. J. Beninger, M. A. Jiménez-Arriero, & T. Archer (Eds.), *Trastornos esquizo-psicóticos* (pp. 299-311). Madrid: Síntesis.
- Crow, T. J. (2007). How and why genetic linkage has not solved the problem of psychosis: review and hypothesis. *American Journal of Psychiatry*, *164*, 13-21.
- Curran, S., Ahn, J. W., Grayton, H., Collier, D. A., & Ogilvie, C. M. (2013). NRXN1 deletions identified by array comparative genome hybridisation in a clinical case series - further understanding of the relevance of NRXN1 to neurodevelopmental disorders. *Journal of Molecular Psychiatry*, *1*, 4.
- Dabell, M. P., Rosenfeld, J. A., Bader, P., Escobar, L. F., El-Khechen, D., Vallee, S. E. et al. (2013). Investigation of NRXN1 deletions: clinical and molecular characterization. *American Journal of Medical Genetics A*, *161A*, 717-731.
- Davis, K. L., Kahn, R. S., Ko, G., & Davidson, M. (1991). Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *American Journal of Psychiatry*, *148*, 1474-1486.
- Dean, B. (2009). Is schizophrenia the price of human central nervous system complexity? *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*, *43*, 13-24.
- Dean, C. & Dresbach, T. (2006). Neuroligins and neurexins: linking cell adhesion, synapse formation and cognitive function. *Trends in Neurosciences*, *29*, 21-29.
- DeLisi, L. E. (1999). A critical overview of recent investigations into the genetics of schizophrenia. *Current opinion in Psychiatry*, *12*, 29-39.
- Demirhan, O. & Tastemir, D. (2003). Chromosome aberrations in a schizophrenia population. *Schizophrenia Research*, *65*, 1-7.
- Deshpande, S. N., Rao, G. P., & Nimgaonkar, V. L. (2016). Advances in schizophrenia genetics bring new challenges for clinicians and researchers. *Indian Journal of Psychiatry*, *58*, 4-5.

- Di, R. A. & Hudson, R. R. (2005). An evolutionary framework for common diseases: the ancestral-susceptibility model. *Trends in Genetics*, *21*, 596-601.
- Disease Control Priorities Project (2006). *Disease Control Priorities in Developing Countries*. (2nd ed.) Washington (DC): World Bank.
- Dityatev, A., El-Husseini, A., & & editors (2006). *Molecular Mechanisms of synaptogenesis*. New York: Springer Verlag.
- Duan, J., Martinez, M., Sanders, A. R., Hou, C., Burrell, G. J., Krasner, A. J. et al. (2007). DTNBP1 (Dystrobrevin binding protein 1) and schizophrenia: association evidence in the 3' end of the gene. *Human Heredity*, *64*, 97-106.
- Dubrovsky, B. (2002). Evolutionary psychiatry. Adaptationist and nonadaptationist conceptualizations. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *26*, 1-19.
- Dudanova, I., Sedej, S., Ahmad, M., Masius, H., Sargsyan, V., Zhang, W. et al. (2006). Important contribution of alpha-neurexins to Ca<sup>2+</sup>-triggered exocytosis of secretory granules. *Journal of Neuroscience*, *26*, 10599-10613.
- Duong, L., Klitten, L. L., Moller, R. S., Ingason, A., Jakobsen, K. D., Skjodt, C. et al. (2012). Mutations in NRXN1 in a family multiply affected with brain disorders: NRXN1 mutations and brain disorders. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric genetics*, *159B*, 354-358.
- Duval, S. & Tweedie, R. (2000). Trim and fill: A simple funnel-plot-based method of testing and adjusting for publication bias in meta-analysis. *Biometrics*, *56*, 455-463.
- Edgar, P. F., Schonberger, S. J., Dean, B., Faull, R. L., Kydd, R., & Cooper, G. J. (1999). A comparative proteome analysis of hippocampal tissue from schizophrenic and Alzheimer's disease individuals. *Molecular Psychiatry*, *4*, 173-178.
- Edgar, P. F., Douglas, J. E., Cooper, G. J., Dean, B., Kydd, R., & Faull, R. L. (2000). Comparative proteome analysis of the hippocampus implicates chromosome 6q in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, *5*, 85-90.
- Egan, M. F., Goldberg, T. E., Kolachana, B. S., Callicott, J. H., Mazzanti, C. M., Straub, R. E. et al. (2001). Effect of COMT Val108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*, 6917-6922.
- Egan, M. F., Goldberg, T. E., Gscheidle, T., Weirich, M., Rawlings, R., Hyde, T. M. et al. (2001). Relative risk for cognitive impairments in siblings of patients with schizophrenia. *Biological Psychiatry*, *50*, 98-107.
- Ellard, J. (1987). Did schizophrenia exist before the eighteenth century? *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*, *21*, 306-318.
- Enggaard Hoeffding, L. K., Hansen, T., Ingason, A., Doung, L., Thygesen, J. H., Moller, R. S. et al. (2014). Sequence analysis of 17 NRXN1 deletions. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric genetics*, *165B*, 52-61.
- Erlenmeyer-Kimling, L., Rock, D., Roberts, S. A., Janal, M., Kestenbaum, C., Cornblatt, B. et al. (2000). Attention, memory, and motor skills as childhood predictors of schizophrenia-related psychoses: the New York High-Risk Project. *American Journal of Psychiatry*, *157*, 1416-1422.
- Etherton, M. R., Blaiss, C. A., Powell, C. M., & Sudhof, T. C. (2009). Mouse neurexin-1alpha deletion causes correlated electrophysiological and behavioral changes consistent with cognitive impairments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*, 17998-18003.
- Eysenk, H. J. (1975). *Fundamentos biológicos de la personalidad*. Barcelona: Fontanella.
- Falkai, P., Rossner, M. J., Schulze, T. G., Hasan, A., Brzozka, M. M., Malchow, B. et al. (2015). Kraepelin revisited: schizophrenia from degeneration to failed regeneration. *Molecular Psychiatry*, *20*, 671-676.
- Fan, J. B., Tang, J. X., Gu, N. F., Feng, G. Y., Zou, F. G., Xing, Y. L. et al. (2002). A family-based and case-control association study of the NOTCH4 gene and schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, *7*, 100-103.

- Faraone, S. V., Seidman, L. J., Kremen, W. S., Toomey, R., Pepple, J. R., & Tsuang, M. T. (2000). Neuropsychologic functioning among the nonpsychotic relatives of schizophrenic patients: the effect of genetic loading. *Biological Psychiatry*, *48*, 120-126.
- Flint, J. & Munafò, M. R. (2007). The endophenotype concept in psychiatric genetics. *Psychological Medicine*, *37*, 163-180.
- Fountoulakis, M. & Kossida, S. (2006). Proteomics-driven progress in neurodegeneration research. *Electrophoresis*, *27*, 1556-1573.
- Frazer, K. A., Ballinger, D. G., Cox, D. R., Hinds, D. A., Stuve, L. L., Gibbs, R. A. et al. (2007). A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature*, *449*, 851-861.
- Frazer, K. A., Murray, S. S., Schork, N. J., & Topol, E. J. (2009). Human genetic variation and its contribution to complex traits. *Nature Reviews Genetics*, *10*, 241-251.
- Funke, B., Malhotra, A. K., Finn, C. T., Plocik, A. M., Lake, S. L., Lencz, T. et al. (2005). COMT genetic variation confers risk for psychotic and affective disorders: a case control study. *Behavioral and Brain Functions*, *1*, 19.
- \* Gauthier, J., Siddiqui, T. J., Huashan, P., Yokomaku, D., Hamdan, F. F., Champagne, N. et al. (2011). Truncating mutations in NRXN2 and NRXN1 in autism spectrum disorders and schizophrenia. *Human Genetics*, *130*, 563-573.
- Geppert, M., Khvotchev, M., Krasnoperov, V., Goda, Y., Missler, M., Hammer, R. E. et al. (1998). Neurexin I alpha is a major alpha-latrotoxin receptor that cooperates in alpha-latrotoxin action. *Journal of Biological Chemistry*, *273*, 1705-1710.
- Giegling, I., Hartmann, A. M., Friedl, M., Konnerth, H., Konte, B., & Moller, H. J. (2011). Genome wide association study in schizophrenia and intermediate phenotypes. *Pharmacopsychiatry* 21[6].  
Ref Type: Abstract
- Giouzei, M., Williams, N. A., Lonie, L. J., DeLisi, L. E., & Crow, T. J. (2004). ProtocadherinX/Y, a candidate gene-pair for schizophrenia and schizoaffective disorder: a DHPLC investigation of genomic sequence. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric genetics*, *129B*, 1-9.
- Gluud, L. L. (2006). Bias in clinical intervention research. *American Journal of Epidemiology*, *163*, 493-501.
- Goff, D. C. & Wine, L. (1997). Glutamate in schizophrenia: clinical and research implications. *Schizophrenia Research*, *27*, 157-168.
- Gogos, J. A., Morgan, M., Luine, V., Santha, M., Ogawa, S., Pfaff, D. et al. (1998). Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*, 9991-9996.
- Goldberg, T. E., Torrey, E. F., Gold, J. M., Ragland, J. D., Bigelow, L. B., & Weinberger, D. R. (1993). Learning and memory in monozygotic twins discordant for schizophrenia. *Psychological Medicine*, *23*, 71-85.
- Goldberg, T. E. & Weinberger, D. R. (1995). A case against subtyping in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, *17*, 147-152.
- Goldberg, T. E., Egan, M. F., Gscheidle, T., Coppola, R., Weickert, T., Kolachana, B. S. et al. (2003). Executive subprocesses in working memory: relationship to catechol-O-methyltransferase Val158Met genotype and schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, *60*, 889-896.
- Gottesman, I. I. & Shields, J. (1967). A polygenic theory of schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *58*, 199-205.
- Gottesman, I. I. (1991). *Schizophrenia genesis: the origin of madness*. Nueva York: W. H. Freeman and Company.
- Gottesman, I. I. & Gould, T. D. (2003). The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *American Journal of Psychiatry*, *160*, 636-645.
- Grace, A. A. (1991). Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience*, *41*, 1-24.

- Grace, A. A. (1991). Regulation of spontaneous activity and oscillatory spike firing in rat midbrain dopamine neurons recorded in vitro. *Synapse*, 7, 221-234.
- Grace, A. A. (1993). Cortical regulation of subcortical dopamine systems and its possible relevance to schizophrenia. *Journal of neural transmission. General section*, 91, 111-134.
- Graf, E. R., Zhang, X., Jin, S. X., Linhoff, M. W., & Craig, A. M. (2004). Neurexins induce differentiation of GABA and glutamate postsynaptic specializations via neuroligins. *Cell*, 119, 1013-1026.
- \* Gratacòs, M., Costas, J., de Cid, R., Bayés, M., González, J. R., Baca-García, E. et al. (2009). Identification of New Putative Susceptibility Genes for Several Psychiatric Disorders by Association Analysis of Regulatory and Non-Synonymous SNPs of 306 Genes Involved in Neurotransmission and Neurodevelopment. *American Journal of Medical Genetics Part B*, 150B, 808-816.
- Green, M. F. (2006). Cognitive impairment and functional outcome in schizophrenia and bipolar disorder. *Journal of Clinical Psychiatry*, 67, e12.
- Greenwood, T. A., Light, G. A., Swerdlow, N. R., & Braff, D. L. (2013). A second large-scale candidate gene analysis of endophenotypes for schizophrenia further implicates the glutamate and neuregulin-ERBB4 signaling pathways. *Neuropsychopharmacology* 38, S476-S477.  
Ref Type: Abstract
- Gregor, A., Albrecht, B., Bader, I., Bijlsma, E. K., Ekici, A. B., Engels, H. et al. (2011). Expanding the clinical spectrum associated with defects in CNTNAP2 and NRXN1. *BMC Medical Genetics*, 12, 106.
- \* Guilmatre, A., Dubourg, C., Mosca, A. L., Legallic, S., Goldenberg, A., Drouin-Garraud, V. et al. (2009). Recurrent rearrangements in synaptic and neurodevelopmental genes and shared biologic pathways in schizophrenia, autism, and mental retardation. *Archives of General Psychiatry*, 66, 947-956.
- Gurling, H. M., Kalsi, G., Brynjolfson, J., Sigmundsson, T., Sherrington, R., Mankoo, B. S. et al. (2001). Genomewide genetic linkage analysis confirms the presence of susceptibility loci for schizophrenia, on chromosomes 1q32.2, 5q33.2, and 8p21-22 and provides support for linkage to schizophrenia, on chromosomes 11q23.3-24 and 20q12.1-11.23. *American Journal of Human Genetics*, 68, 661-673.
- Gygi, S. P., Rochon, Y., Franza, B. R., & Aebersold, R. (1999). Correlation between protein and mRNA abundance in yeast. *Molecular and Cellular Biology*, 19, 1720-1730.
- Hakak, Y., Walker, J. R., Li, C., Wong, W. H., Davis, K. L., Buxbaum, J. D. et al. (2001). Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 4746-4751.
- Hamshere, M. L., Bennett, P., Williams, N., Segurado, R., Cardno, A., Norton, N. et al. (2005). Genomewide linkage scan in schizoaffective disorder: significant evidence for linkage at 1q42 close to DISC1, and suggestive evidence at 22q11 and 19p13. *Archives of General Psychiatry*, 62, 1081-1088.
- Hanson, J. G. & Rapp, C. A. (1992). Families' perceptions of community mental health programs for their relatives with a severe mental illness. *Community Mental Health Journal*, 28, 181-197.
- Harris, L. W., Wayland, M., Lan, M., Ryan, M., Giger, T., Lockstone, H. et al. (2008). The cerebral microvasculature in schizophrenia: a laser capture microdissection study. *PLoS One*, 3, e3964.
- Harrison, P. J. & Owen, M. J. (2003). Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. *Lancet*, 361, 417-419.
- Harrison, P. J. & Weinberger, D. R. (2005). Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular Psychiatry*, 10, 40-68.
- Harrison, V., Connell, L., Hayesmoore, J., McParland, J., Pike, M. G., & Blair, E. (2011). Compound heterozygous deletion of NRXN1 causing severe developmental delay with early onset epilepsy in two sisters. *American Journal of Medical Genetics A*, 155A, 2826-2831.

- Hattori, D., Chen, Y., Matthews, B. J., Salwinski, L., Sabatti, C., Grueber, W. B. et al. (2009). Robust discrimination between self and non-self neurites requires thousands of Dscam1 isoforms. *Nature*, *461*, 644-648.
- Haukka, J., Suvisaari, J., & Lonnqvist, J. (2003). Fertility of patients with schizophrenia, their siblings, and the general population: a cohort study from 1950 to 1959 in Finland. *American Journal of Psychiatry*, *160*, 460-463.
- Health Council of The Netherlands (1999). *Screening and treatment of adolescents with schizophrenia*. (Rep. No. 1999/08E). The Hague (The Netherlands): Health Council of The Netherlands.
- Hedges, D. J., Hamilton-Nelson, K. L., Sacharow, S. J., Nations, L., Beecham, G. W., Kozhekbaeva, Z. M. et al. (2012). Evidence of novel fine-scale structural variation at autism spectrum disorder candidate loci. *Molecular Autism*, *3*, 2.
- Hemby, S. E., Ginsberg, S. D., Brunk, B., Arnold, S. E., Trojanowski, J. Q., & Eberwine, J. H. (2002). Gene expression profile for schizophrenia: discrete neuron transcription patterns in the entorhinal cortex. *Archives of General Psychiatry*, *59*, 631-640.
- Hennah, W., Tuulio-Henriksson, A., Paunio, T., Ekelund, J., Varilo, T., Partonen, T. et al. (2005). A haplotype within the DISC1 gene is associated with visual memory functions in families with a high density of schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, *10*, 1097-1103.
- Hennah, W. & Porteous, D. (2009). The DISC1 pathway modulates expression of neurodevelopmental, synaptogenic and sensory perception genes. *PLoS One*, *4*, e4906.
- Hirschhorn, J. N., Lohmueller, K., Byrne, E., & Hirschhorn, K. (2002). A comprehensive review of genetic association studies. *Genetics in Medicine*, *4*, 45-61.
- Hong, L. E., Summerfelt, A., Mitchell, B. D., McMahon, R. P., Wonodi, I., Buchanan, R. W. et al. (2008). Sensory gating endophenotype based on its neural oscillatory pattern and heritability estimate. *Archives of General Psychiatry*, *65*, 1008-1016.
- Howes, O. D. & Kapur, S. (2009). The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophrenia Bulletin*, *35*, 549-562.
- Howes, O. D. & Kapur, S. (2009). The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophrenia Bulletin*, *35*, 549-562.
- Huang, J. T., Leweke, F. M., Oxley, D., Wang, L., Harris, N., Koethe, D. et al. (2006). Disease biomarkers in cerebrospinal fluid of patients with first-onset psychosis. *PLoS Medicine*, *3*, e428.
- Huxley, J., Mayr, E., Osmond, H., & Hoffer, A. (1964). Schizophrenia as a genetic morphism. *Nature*, *204*, 220-221.
- Huxley, J., Mayr, E., & Osmond, H. (1965). Schizophrenia. *Nature*, *206*, 1112.
- Ichtchenko, K., Hata, Y., Nguyen, T., Ullrich, B., Missler, M., Moomaw, C. et al. (1995). Neuroligin 1: a splice site-specific ligand for beta-neurexins. *Cell*, *81*, 435-443.
- Iijima, T., Wu, K., Witte, H., Hanno-Iijima, Y., Glatter, T., Richard, S. et al. (2011). SAM68 regulates neuronal activity-dependent alternative splicing of neurexin-1. *Cell*, *147*, 1601-1614.
- \* Ikeda, M., Aleksic, B., Kirov, G., Kinoshita, Y., Yamanouchi, Y., Kitajima, T. et al. (2010). Copy number variation in schizophrenia in the Japanese population. *Biological Psychiatry*, *67*, 283-286.
- Imai, K., Harada, S., Kawanishi, Y., Tachikawa, H., Okubo, T., & Suzuki, T. (2001). Polymorphisms in the promoter and coding regions of the synapsin III gene. A lack of association with schizophrenia. *Neuropsychobiology*, *43*, 237-241.
- Insel, T. R. (2016). Transforming diagnosis. <http://www.nimh.nih.gov.4> [Electronic version].
- Insel, T. R. & Lieberman, J. A. (2016). DSM-5 and RDoC: shared interests. <http://interests.www.nimh.nih.gov.5> [Electronic version].
- \* International Schizophrenia Consortium (2008). Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature*, *455*, 237-241.

- Issidorides, M. R., Stefanis, C. N., Varsou, E., & Katsorchis, T. (1975). Altered chromatin ultrastructure in neutrophils of schizophrenics. *Nature*, *258*, 612-614.
- Ito, C. & Ouchi, Y. (2003). Toward schizophrenia genes: Genetics and transcriptome. *Drug Development Research*, *60*, 111-118.
- Ivorra, J. L., Gonzalez, J. C., Costas, J., Arango-Lopez, C., Bernardo, M., & Bobes, J. (2012). Replication of previous GWAS studies in schizophrenia show common risk snps with bipolar disorder. *Schizophrenia Research*, *136*, S316.
- Ivorra, J. L., Rivero, O., Costas, J., Iniesta, R., Arrojo, M., Ramos-Rios, R. et al. (2014). Replication of previous genome-wide association studies of psychiatric diseases in a large schizophrenia case-control sample from Spain. *Schizophrenia Research*, *159*, 107-113.
- Jablensky, A., Sartorius, N., Ernberg, G., Anker, M., Korten, A., Cooper, J. E. et al. (1992). Schizophrenia: manifestations, incidence and course in different cultures. A World Health Organization ten-country study. *Psychological Medicine Monograph Supplement*, *20*, 1-97.
- James, R., Adams, R. R., Christie, S., Buchanan, S. R., Porteous, D. J., & Millar, J. K. (2004). Disrupted in Schizophrenia 1 (DISC1) is a multicompartimentalized protein that predominantly localizes to mitochondria. *Molecular and Cellular Neuroscience*, *26*, 112-122.
- Jarskog, L. F., Miyamoto, S., & Lieberman, J. A. (2007). Schizophrenia: new pathological insights and therapies. *Annual Review of Medicine*, *58*, 49-61.
- Javitt, D. C. & Zukin, S. R. (1991). Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, *148*, 1301-1308.
- Javitt, D. C. & Coyle, J. T. (2004). Decoding schizophrenia. *Scientific American*, *290*, 48-55.
- Javitt, D. C. (2007). Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. *International Review of Neurobiology*, *78*, 69-108.
- Jenkins, A., Wang, Y., Hyde, T., Kleinman, J., & Law, A. (2011). Neurexin 1 (NRXN1) gene expression across the normal human lifespan: Implications for neurodevelopment and schizophrenia. *Biological Psychiatry* *69*[9], 65S.
- Jenkins, A., Apud, J. A., Zhang, F., Decot, H., Weinberger, D. R., & Law, A. J. (2014). Identification of candidate single-nucleotide polymorphisms in NRXN1 related to antipsychotic treatment response in patients with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, *39*, 2170-2178.
- Jeste, D. V., del, C. R., Lohr, J. B., & Wyatt, R. J. (1985). Did schizophrenia exist before the eighteenth century? *Comprehensive Psychiatry*, *26*, 493-503.
- Jiang, L., Lindpaintner, K., Li, H. F., Gu, N. F., Langen, H., He, L. et al. (2003). Proteomic analysis of the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. *Amino Acids*, *25*, 49-57.
- John, B. & Lewis, K. R. (1966). Chromosome variability and geographic distribution in insects. *Science*, *152*, 711-721.
- Johns, L. C. & van, O. J. (2001). The continuity of psychotic experiences in the general population. *Clinical Psychology Review*, *21*, 1125-1141.
- Jones, P. & Cannon, M. (1998). The new epidemiology of schizophrenia. *Psychiatric Clinics of North America*, *21*, 1-25.
- Kapur, S. & Remington, G. (1996). Serotonin-dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, *153*, 466-476.
- Kattenstroth, G., Tantalaki, E., Sudhof, T. C., Gottmann, K., & Missler, M. (2004). Postsynaptic N-methyl-D-aspartate receptor function requires alpha-neurexins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*, 2607-2612.
- Keller, M. C. & Miller, G. (2006). Resolving the paradox of common, harmful, heritable mental disorders: which evolutionary genetic models work best? *Journal of Behavioral and Brain Science*, *29*, 385-404.
- Kendler, K. S. & Davis, K. L. (1981). The genetics and biochemistry of paranoid schizophrenia and other paranoid psychoses. *Schizophrenia Bulletin*, *7*, 689-709.

- Kendler, K. S., Spitzer, R. L., & Williams, J. B. (1989). Psychotic disorders in DSM-III-R. *American Journal of Psychiatry*, *146*, 953-962.
- Kendler, K. S., McGuire, M., Gruenberg, A. M., & Walsh, D. (1994). Clinical heterogeneity in schizophrenia and the pattern of psychopathology in relatives: results from an epidemiologically based family study. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *89*, 294-300.
- Kendler, K. S. & Diehl, S. R. (1995). Schizophrenia: Genetics. In H.I.Kaplan & B. J. Sadock (Eds.), *Comprehensive Textbook of Psychiatry* (pp. 942-957). Baltimore: Williams and Wilkins.
- Kendler, K. S., Myers, J. M., O'Neill, F. A., Martin, R., Murphy, B., MacLean, C. J. et al. (2000). Clinical features of schizophrenia and linkage to chromosomes 5q, 6p, 8p, and 10p in the Irish Study of High-Density Schizophrenia Families. *American Journal of Psychiatry*, *157*, 402-408.
- \* Kenny, E. M., Cormican, P., Furlong, S., Heron, E., Kenny, G., Fahey, C. et al. (2013). Excess of rare novel loss-of-function variants in synaptic genes in schizophrenia and autism spectrum disorders. *Molecular Psychiatry*, *19*, 872-879.
- Kerwin, R. (2000). The Neuropharmacology of Schizophrenia: Past, present and future. In M.A.Reveley & J. F. Deakin (Eds.), *The psychopharmacology of schizophrenia* (pp. 41-55). Londres: Arnold.
- Keshavan, M. S., Tandon, R., Boutros, N. N., & Nasrallah, H. A. (2008). Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology. *Schizophrenia Research*, *106*, 89-107.
- Khoury, M. J., Bertram, L., Boffetta, P., Butterworth, A. S., Chanock, S. J., Dolan, S. M. et al. (2009). Genome-wide association studies, field synopses, and the development of the knowledge base on genetic variation and human diseases. *American Journal of Epidemiology*, *170*, 269-279.
- Kim, H. G., Kishikawa, S., Higgins, A. W., Seong, I. S., Donovan, D. J., Shen, Y. et al. (2008). Disruption of neurexin 1 associated with autism spectrum disorder. *American Journal of Human Genetics*, *82*, 199-207.
- Kirkbride, J. B., Fearon, P., Morgan, C., Dazzan, P., Morgan, K., Tarrant, J. et al. (2006). Heterogeneity in incidence rates of schizophrenia and other psychotic syndromes: findings from the 3-center AeSOP study. *Archives of General Psychiatry*, *63*, 250-258.
- \* Kirov, G., Gumus, D., Chen, W., Norton, N., Georgieva, L., Sari, M. et al. (2008). Comparative genome hybridization suggests a role for NRXN1 and APBA2 in schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, *17*, 458-465.
- \* Kirov, G., Grozeva, D., Norton, N., Ivanov, D., Mantripragada, K. K., Holmans, P. et al. (2009). Support for the involvement of large copy number variants in the pathogenesis of schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, *18*, 1497-1503.
- Kirov, G., Rujescu, D., Ingason, A., Collier, D. A., O'Donovan, M. C., & Owen, M. J. (2009). Neurexin 1 (NRXN1) deletions in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, *35*, 851-854.
- Knapp, M., Mangalore, R., & Simon, J. (2004). The global costs of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, *30*, 279-293.
- Konradi, C. & Heckers, S. (2003). Molecular aspects of glutamate dysregulation: implications for schizophrenia and its treatment. *Pharmacology & Therapeutics*, *97*, 153-179.
- Kosower, N. S., Gerad, L., Goldstein, M., Parasol, N., Zipsler, Y., Ragolsky, M. et al. (1995). Constitutive heterochromatin of chromosome 1 and Duffy blood group alleles in schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics*, *60*, 133-138.
- Kretschmer, E. (1921). *Koerperbau und Charakter*. Berlin: Springer.
- Lahm, H. W. & Langen, H. (2000). Mass spectrometry: a tool for the identification of proteins separated by gels. *Electrophoresis*, *21*, 2105-2114.
- Langfeldt, G. (1939). *The schizophreniform states*. Kopenhagen: Munksgaard.
- Laruelle, M., Kegeles, L. S., & Abi-Dargham, A. (2003). Glutamate, dopamine, and schizophrenia: from pathophysiology to treatment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1003*, 138-158.

- Lauerma, H., Lehtinen, V., Joukamaa, M., Jarvelin, M. R., Helenius, H., & Isohanni, M. (1998). Schizophrenia among patients treated for rheumatoid arthritis and appendicitis. *Schizophrenia Research, 29*, 255-261.
- Lee, K., Kunugi, H., & Nanko, S. (2001). Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) gene and schizophrenia: polymorphism screening and association analysis. *Psychiatry Research, 104*, 11-17.
- Lehman, A. F., Kreyenbuhl, J., Buchanan, R. W., Dickerson, F. B., Dixon, L. B., Goldberg, R. et al. (2004). The Schizophrenia Patient Outcomes Research Team (PORT): updated treatment recommendations 2003. *Schizophrenia Bulletin, 30*, 193-217.
- Lemos, S. (1995). *Psicopatología*. Madrid: Síntesis.
- Lenzenweger, M. F. & Dworkin, R. H. (1998). *Origins and development of schizophrenia. Advance in experimental psychopathology*. Washington: American Psychological Association.
- Lesch, K. P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S. Z., Greenberg, B. D., Petri, S. et al. (1996). Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science, 274*, 1527-1531.
- Lett, T. A., Tiwari, A. K., Meltzer, H. Y., Lieberman, J. A., Potkin, S. G., Voineskos, A. N. et al. (2011). The putative functional rs1045881 marker of neurexin-1 in schizophrenia and clozapine response. *Schizophrenia Research, 132*, 121-124.
- Levinson, D. F., Mahtani, M. M., Nancarrow, D. J., Brown, D. M., Kruglyak, L., Kirby, A. et al. (1998). Genome scan of schizophrenia. *American Journal of Psychiatry, 155*, 741-750.
- Levinson, D. F., Holmans, P., Straub, R. E., Owen, M. J., Wildenauer, D. B., Gejman, P. V. et al. (2000). Multicenter linkage study of schizophrenia candidate regions on chromosomes 5q, 6q, 10p, and 13q: schizophrenia linkage collaborative group III. *American Journal of Human Genetics, 67*, 652-663.
- \* Levinson, D. F., Duan, J., Oh, S., Wang, K., Sanders, A. R., Shi, J. et al. (2011). Copy number variants in schizophrenia: confirmation of five previous findings and new evidence for 3q29 microdeletions and VIPR2 duplications. *American Journal of Psychiatry, 168*, 302-316.
- Levinson, D. F., Shi, J., Wang, K., Oh, S., Riley, B., Pulver, A. E. et al. (2012). Genome-wide association study of multiplex schizophrenia pedigrees. *American Journal of Psychiatry, 169*, 963-973.
- Lewis, C. M., Levinson, D. F., Wise, L. H., DeLisi, L. E., Straub, R. E., Hovatta, I. et al. (2003). Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *American Journal of Human Genetics, 73*, 34-48.
- Lewis, D. A. & Levitt, P. (2002). Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annual Review of Neuroscience, 25*, 409-432.
- Lewis, D. A., Hashimoto, T., & Volk, D. W. (2005). Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience, 6*, 312-324.
- Li, W., Zhang, Q., Oiso, N., Novak, E. K., Gautam, R., O'Brien, E. P. et al. (2003). Hermansky-Pudlak syndrome type 7 (HPS-7) results from mutant dysbindin, a member of the biogenesis of lysosome-related organelles complex 1 (BLOC-1). *Nature Genetics, 35*, 84-89.
- Lichtermann, D., Ekelund, J., Pukkala, E., Tanskanen, A., & Lonnqvist, J. (2001). Incidence of cancer among persons with schizophrenia and their relatives. *Archives of General Psychiatry, 58*, 573-578.
- Lieberman, J. A., Kane, J. M., & Alvir, J. (1987). Provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl), 91*, 415-433.
- Lin, C., Tang, W., Hu, J., Gao, L., Huang, K., Xu, Y. et al. (2009). Haplotype analysis confirms association of the serotonin transporter (5-HTT) gene with schizophrenia in the Han Chinese population. *Neuroscience Letters, 453*, 210-213.
- Lindholm, E., Ekholm, B., Shaw, S., Jalonen, P., Johansson, G., Pettersson, U. et al. (2001). A schizophrenia-susceptibility locus at 6q25, in one of the world's largest reported pedigrees. *American Journal of Human Genetics, 69*, 96-105.



- Little, J., Higgins, J. P., Ioannidis, J. P., Moher, D., Gagnon, F., von, E. E. et al. (2009). Strengthening the REporting of Genetic Association studies (STREGA): an extension of the STROBE Statement. *Annals of Internal Medicine*, 150, 206-215.
- Liu, C. M., Hwu, H. G., Lin, M. W., Ou-Yang, W. C., Lee, S. F., Fann, C. S. et al. (2001). Suggestive evidence for linkage of schizophrenia to markers at chromosome 15q13-14 in Taiwanese families. *American Journal of Medical Genetics.*, 105, 658-661.
- Liu, H., Heath, S. C., Sobin, C., Roos, J. L., Galke, B. L., Blundell, M. L. et al. (2002). Genetic variation at the 22q11 PRODH2/DGCR6 locus presents an unusual pattern and increases susceptibility to schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 3717-3722.
- Lockhart, D. J. & Barlow, C. (2001). Expressing what's on your mind: DNA arrays and the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 2, 63-68.
- Lombroso, C. (1876). *L'uomo delinquente*.
- Lopez-Ibor, J. J. (2008). The founding of the first psychiatric hospital in the World in Valencia. *Actas Españolas de Psiquiatría*, 36, 1-9.
- Luykx, J. J., Bakker, S. C., Lentjes, E., Neeleman, M., Strengman, E., Mentink, L. et al. (2014). Genome-wide association study of monoamine metabolite levels in human cerebrospinal fluid. *Molecular Psychiatry*, 19, 228-234.
- \* Magri, C., Sacchetti, E., Traversa, M., Valsecchi, P., Gardella, R., Bonvicini, C. et al. (2010). New copy number variations in schizophrenia. *PLoS One*, 5, e13422.
- Mangalore, R. & Knapp, M. (2007). Cost of schizophrenia in England. *Journal of Mental Health Policy and Economics*, 10, 23-41.
- Marcotte, E. R., Pearson, D. M., & Srivastava, L. K. (2001). Animal models of schizophrenia: a critical review. *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 26, 395-410.
- Marshall, C. R., Noor, A., Vincent, J. B., Lionel, A. C., Feuk, L., Skaug, J. et al. (2008). Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder. *American Journal of Human Genetics*, 82, 477-488.
- Mathers, C. D. & Loncar, D. (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Medicine*, 3, e442.
- Mattay, V. S., Goldberg, T. E., Fera, F., Hariri, A. R., Tessitore, A., Egan, M. F. et al. (2003). Catechol O-methyltransferase val158-met genotype and individual variation in the brain response to amphetamine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 6186-6191.
- Matthysse, S. (1974). Dopamine and the pharmacology of schizophrenia: the state of the evidence. *Journal of Psychiatric Research*, 11, 107-113.
- Maynard, T. M., Sikich, L., Lieberman, J. A., & LaMantia, A. S. (2001). Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 27, 457-476.
- McGrath, J., Saha, S., Welham, J., El, S. O., MacCauley, C., & Chant, D. (2004). A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. *BMC Medicine*, 2, 13.
- McGrath, J., Saha, S., Chant, D., & Welham, J. (2008). Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. *Epidemiologic Reviews*, 30, 67-76.
- McGrath, J. J. (2005). Myths and plain truths about schizophrenia epidemiology--the NAPE lecture 2004. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 111, 4-11.
- McGrath, J. J. (2006). Variations in the incidence of schizophrenia: data versus dogma. *Schizophrenia Bulletin*, 32, 195-197.
- Meehl, P. E. (1962). Schizotaxia, schizotypy, schizophrenia. *American Psychologist*, 17, 827-838.
- Meehl, P. E. (1990). Toward an Integrated Theory of Schizotaxia, Schizotypy, and Schizophrenia. *Journal of Personality Disorders*, 4, 1-99.

- Meinertzhagen, I. A. & Lee, C. H. (2012). The genetic analysis of functional connectomics in *Drosophila*. *Advances in Genetics*, *80*, 99-151.
- Meltzer, D. (1999). Perspective and the measurement of costs and benefits for cost-effectiveness analysis in schizophrenia. *Journal of Clinical Psychiatry*, *60 Suppl 3*, 32-35.
- Mill, J., Tang, T., Kaminsky, Z., Khare, T., Yazdanpanah, S., Bouchard, L. et al. (2008). Epigenomic profiling reveals DNA-methylation changes associated with major psychosis. *American Journal of Human Genetics*, *82*, 696-711.
- Millar, J. K., Wilson-Annan, J. C., Anderson, S., Christie, S., Taylor, M. S., Semple, C. A. et al. (2000). Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, *9*, 1415-1423.
- Mirnics, K., Middleton, F. A., Marquez, A., Lewis, D. A., & Levitt, P. (2000). Molecular characterization of schizophrenia viewed by microarray analysis of gene expression in prefrontal cortex. *Neuron*, *28*, 53-67.
- Mirnics, K., Middleton, F. A., Stanwood, G. D., Lewis, D. A., & Levitt, P. (2001). Disease-specific changes in regulator of G-protein signaling 4 (RGS4) expression in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, *6*, 293-301.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., & Altman, D. G. (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Medicine*, *6*, e1000097.
- Monteleone, P., Tortorella, A., Borriello, R., Cassandro, P., & Maj, M. (1999). Prolactin hyperresponsiveness to D-fenfluramine in drug-free schizophrenic patients: a placebo-controlled study. *Biological Psychiatry*, *45*, 1606-1611.
- Morris, D. W., Rodgers, A., McGhee, K. A., Schwaiger, S., Scully, P., Quinn, J. et al. (2004). Confirming RGS4 as a susceptibility gene for schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics. B Neuropsychiatric genetics*, *125B*, 50-53.
- Mortensen, P. B., Pedersen, C. B., Westergaard, T., Wohlfahrt, J., Ewald, H., Mors, O. et al. (1999). Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. *New England Journal of Medicine*, *340*, 603-608.
- Moskowitz, A. & Heim, G. (2011). Eugen Bleuler's Dementia praecox or the group of schizophrenias (1911): a centenary appreciation and reconsideration. *Schizophrenia Bulletin*, *37*, 471-479.
- \* Muhleisen, T. W., Basmanav, F. B., Forstner, A. J., Mattheisen, M., Priebe, L., Herms, S. et al. (2011). Resequencing and follow-up of neurexin 1 (NRXN1) in schizophrenia patients. *Schizophrenia Research*, *127*, 35-40.
- Muir, W. J., Pickard, B. S., & Blackwood, D. H. (2008). Disrupted-in-Schizophrenia-1. *Current Psychiatry Reports*, *10*, 140-147.
- Mulle, J. G. (2008). Genomic structural variation and schizophrenia. *Current Psychiatry Reports*, *10*, 171-177.
- Murray, R. M., Jones, P. B., Susser, E., van Os, J., & Cannon, M. (2002). *The Epidemiology of Schizophrenia*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Navarro-Mateu, F., Martinez, S., van, O. J., & Barcia, D. (1999). [Neurodevelopmental hypothesis in functional psychosis]. *Actas Españolas de Psiquiatría*, *27*, 264-272.
- Navarro-Mateu, F., Escamez, T., Koenen, K. C., Alonso, J., & Sanchez-Meca, J. (2013). Meta-analyses of the 5-HTTLPR polymorphisms and post-traumatic stress disorder. *PLoS One*, *8*, e66227.
- Need, A. C., Ge, D., Weale, M. E., Maia, J., Feng, S., Heinzen, E. L. et al. (2009). A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia. *PLoS Genetics*, *5*, e1000373.
- Nesse, R. M. (2002). Evolutionary biology: a basic science for psychiatry. *World Psychiatry*, *1*, 7-9.
- Ng, M. Y., Levinson, D. F., Faraone, S. V., Suarez, B. K., DeLisi, L. E., Arinami, T. et al. (2009). Meta-analysis of 32 genome-wide linkage studies of schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, *14*, 774-785.

- Nicholson, T. R., Yang, J., DeLisi, L. E., & Crow, T. J. (2002). Allele sharing for schizophrenia and schizo-affective disorder within a region of Homo sapiens specific XY homology. *American Journal of Medical Genetics.*, *114*, 637-640.
- Nimgaonkar, V. L. (1998). Reduced fertility in schizophrenia: here to stay? *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *98*, 348-353.
- Novak, G., Boukhadra, J., Shaikh, S. A., Kennedy, J. L., & Le, F. B. (2009). Association of a polymorphism in the NRXN3 gene with the degree of smoking in schizophrenia: a preliminary study. *World Journal of Biological Psychiatry*, *10*, 929-935.
- O'Dushlaine, C., Kenny, E., Heron, E., Donohoe, G., Gill, M., Morris, D. et al. (2011). Molecular pathways involved in neuronal cell adhesion and membrane scaffolding contribute to schizophrenia and bipolar disorder susceptibility. *Molecular Psychiatry*, *16*, 286-292.
- Oh, G. & Petronis, A. (2008). Environmental studies of schizophrenia through the prism of epigenetics. *Schizophrenia Bulletin*, *34*, 1122-1129.
- Ohtsuki, T., Ichiki, R., Toru, M., & Arinami, T. (2000). Mutational analysis of the synapsin III gene on chromosome 22q12-q13 in schizophrenia. *Psychiatry Research*, *94*, 1-7.
- Okochi, T., Ikeda, M., Kishi, T., Kawashima, K., Kinoshita, Y., Kitajima, T. et al. (2009). Meta-analysis of association between genetic variants in COMT and schizophrenia: an update. *Schizophrenia Research*, *110*, 140-148.
- Oliva-Moreno, J., Lopez-Bastida, J., Osuna-Guerrero, R., Montejo-Gonzalez, A. L., & Duque-Gonzalez, B. (2006). The costs of schizophrenia in Spain. *European Journal of Health Economics*, *7*, 182-188.
- Organización Mundial de la Salud (1992). *CIE 10. Décima Revisión de la Clasificación Internacional de Las Enfermedades. Trastornos Mentales y del Comportamiento: Descripciones Clínicas y pautas para el Diagnóstico*. Madrid: Meditor.
- Ott, J. (1991). *Analysis of human genetic linkage*. Baltimore: John Hopkins University Press.
- Owen, M. J., Williams, N. M., & O'Donovan, M. C. (2004). The molecular genetics of schizophrenia: new findings promise new insights. *Molecular Psychiatry*, *9*, 14-27.
- Palomo, T. (2005). Esquizofrenia y dopamina. In T. Palomo, R. J. Beninger, M. A. Jiménez-Arriero, & E. Huertas (Eds.), *Sistema dopaminérgico y trastornos psiquiátricos. Avances científicos y realidad clínica* (Madrid): CYM.
- Paniagua, R., Nistal, M., Sesma, P., Ivarez-Urúa, M., Fraile, B., Anadón, R. et al. (2002). *Citología e histología vegetal y animal*. McGraw-Hill Interamericana.
- Pariante, C. M., Vassilopoulou, K., Velakoulis, D., Phillips, L., Soulsby, B., Wood, S. J. et al. (2004). Pituitary volume in psychosis. *British Journal of Psychiatry*, *185*, 5-10.
- Pearlson, G. D. & Folley, B. S. (2008). Schizophrenia, psychiatric genetics, and Darwinian psychiatry: an evolutionary framework. *Schizophrenia Bulletin*, *34*, 722-733.
- Peralta, V., de, L. J., & Cuesta, M. J. (1992). Are there more than two syndromes in schizophrenia? A critique of the positive-negative dichotomy. *British Journal of Psychiatry*, *161*, 335-343.
- Peralta, V. & Cuesta, M. J. (1995). Negative symptoms in schizophrenia: a confirmatory factor analysis of competing models. *American Journal of Psychiatry*, *152*, 1450-1457.
- Petrenko, A. G., Ullrich, B., Missler, M., Krasnoperov, V., Rosahl, T. W., & Sudhof, T. C. (1996). Structure and evolution of neurexophilin. *Journal of Neuroscience*, *16*, 4360-4369.
- Petzoldt, A. G. & Sigrist, S. J. (2014). Synaptogenesis. *Current Biology*, *24*, R1076-R1080.
- Philippe, A., Martinez, M., Guilloud-Bataille, M., Gillberg, C., Rastam, M., Sponheim, E. et al. (1999). Genome-wide scan for autism susceptibility genes. Paris Autism Research International Sibpair Study. *Human Molecular Genetics*, *8*, 805-812.
- Portin, P. & Alanen, Y. O. (1997). A critical review of genetic studies of schizophrenia. II. Molecular genetic studies. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *95*, 73-80.

- Portin, P. & Alanen, Y. O. (1997). A critical review of genetic studies of schizophrenia. I. Epidemiological and brain studies. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 95, 1-5.
- Prabakaran, S., Swatton, J. E., Ryan, M. M., Huffaker, S. J., Huang, J. T., Griffin, J. L. et al. (2004). Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. *Molecular Psychiatry*, 9, 684-97, 643.
- Prabakaran, S., Wengenroth, M., Lockstone, H. E., Lilley, K., Leweke, F. M., & Bahn, S. (2007). 2-D DIGE analysis of liver and red blood cells provides further evidence for oxidative stress in schizophrenia. *Journal of Proteome Research*, 6, 141-149.
- Prasad, S. E., Howley, S., & Murphy, K. C. (2008). Candidate genes and the behavioral phenotype in 22q11.2 deletion syndrome. *Developmental Disabilities Research Reviews*, 14, 26-34.
- PSE (1975). Editorial: Present state examination. *Medical Journal of Australia*, 1, 706.
- Psychiatric GWAS Consortium Steering Committee. (2009). A framework for interpreting genome-wide association studies of psychiatric disorders. *Molecular Psychiatry*, 14, 10-17.
- Purcell, S. M., Wray, N. R., Stone, J. L., Visscher, P. M., O'Donovan, M. C., Sullivan, P. F. et al. (2009). Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature*, 460, 748-752.
- \* Rees, E., Walters, J. T., Georgieva, L., Isles, A. R., Chambert, K. D., Richards, A. L. et al. (2014). Analysis of copy number variations at 15 schizophrenia-associated loci. *British Journal of Psychiatry*, 204, 108-114.
- Reichelt, A. C., Rodgers, R. J., & Clapcote, S. J. (2012). The role of neurexins in schizophrenia and autistic spectrum disorder. *Neuropharmacology*, 62, 1519-1526.
- Robinson, D., Woerner, M. G., Alvir, J. M., Bilder, R., Goldman, R., Geisler, S. et al. (1999). Predictors of relapse following response from a first episode of schizophrenia or schizoaffective disorder. *Archives of General Psychiatry*, 56, 241-247.
- Rossler, W., Salize, H. J., van, O. J., & Riecher-Rossler, A. (2005). Size of burden of schizophrenia and psychotic disorders. *European Neuropsychopharmacology*, 15, 399-409.
- Rothman, K. J. (1976). Causes. *American Journal of Epidemiology*, 104, 587-592.
- Rotrosen, J., Angrist, B., Gershon, S., Paquin, J., Branchey, L., Oleshansky, M. et al. (1979). Neuroendocrine effects of apomorphine: characterization of response patterns and application to schizophrenia research. *British Journal of Psychiatry*, 135, 444-456.
- Rowen, L., Young, J., Birditt, B., Kaur, A., Madan, A., Philipps, D. L. et al. (2002). Analysis of the human neurexin genes: alternative splicing and the generation of protein diversity. *Genomics*, 79, 587-597.
- Ruhrmann, S., Schultze-Lutter, F., & Klosterkötter, J. (2010). Probably at-risk, but certainly ill--advocating the introduction of a psychosis spectrum disorder in DSM-V. *Schizophrenia Research*, 120, 23-37.
- \* Rujescu, D., Ingason, A., Cichon, S., Pietiläinen, O. P., Barnes, M. R., Toulopoulou, T. et al. (2009). Disruption of the neurexin 1 gene is associated with schizophrenia. *Human Molecular Genetics*, 18, 988-996.
- Sadock, B. J., Sadock, V. A., & Ruiz, P. (2015). *Kaplan and Sadock's Synopsis of Psychiatry: Behavioral Sciences/Clinical Psychiatry*. (Eleventh ed.) Philadelphia: Wolters Kluwer.
- Sagoo, G. S., Little, J., & Higgins, J. P. (2009). Systematic reviews of genetic association studies. Human Genome Epidemiology Network. *PLoS Medicine*, 6, e28.
- Saha, S., Chant, D., Welham, J., & McGrath, J. (2005). A systematic review of the prevalence of schizophrenia. *PLoS Medicine*, 2, e141.
- Sakurai, K., Migita, O., Toru, M., & Arinami, T. (2002). An association between a missense polymorphism in the close homologue of L1 (CHL1, CALL) gene and schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, 7, 412-415.
- Salinas, P. C. & Zou, Y. (2008). Wnt signaling in neural circuit assembly. *Annual Review of Neuroscience*, 31, 339-358.

- Salize, H. J., McCabe, R., Bullenkamp, J., Hansson, L., Lauber, C., Martinez-Leal, R. et al. (2009). Cost of treatment of schizophrenia in six European countries. *Schizophrenia Research*, *111*, 70-77.
- Sanchez-Meca, J. & Marin-Martinez, F. (2008). Confidence intervals for the overall effect size in random-effects meta-analysis. *Psychological Methods*, *13*, 31-48.
- Sanders, A. R., Duan, J., Levinson, D. F., Shi, J., He, D., Hou, C. et al. (2008). No significant association of 14 candidate genes with schizophrenia in a large European ancestry sample: implications for psychiatric genetics. *American Journal of Psychiatry*, *165*, 497-506.
- Sandín, B. (2013). DSM-5: ¿Cambio de paradigma en la clasificación de los trastornos mentales? *Revista de Psicopatología y Psicología Clínica*, *18*, 255-286.
- Sanjuan, J. (1999). Teorías evolucionistas de las esquizofrenias. *Actas Españolas de Psiquiatría*, *27*, 390-397.
- Sanjuan, J., Tolosa, A., Gonzalez, J. C., Aguilar, E. J., Molto, M. D., Najera, C. et al. (2005). FOXP2 polymorphisms in patients with schizophrenia. *Schizophrenia Research*, *73*, 253-256.
- Sanjuan, J., Rivero, O., Aguilar, E. J., Gonzalez, J. C., Molto, M. D., de, F. R. et al. (2006). Serotonin transporter gene polymorphism (5-HTTLPR) and emotional response to auditory hallucinations in schizophrenia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *9*, 131-133.
- Sanjuan, J., Aguilar, E. J., & de, F. R. (2006). Time for a broad phenotype in schizophrenia? *British Journal of Psychiatry*, *188*, 190.
- Sanjuán, J. (2001). Orígenes de la psicosis: de la ontogenia a la filogenia. In Grupo Ars XXI de Comunicación (Ed.), *Neurodesarrollo y esquizofrenia* (pp. 9-23). Barcelona.
- Sargent, C. A., Boucher, C. A., Blanco, P., Chalmers, I. J., Highet, L., Hall, N. et al. (2001). Characterization of the human Xq21.3/Yp11 homology block and conservation of organization in primates. *Genomics*, *73*, 77-85.
- Sartorius, N., Jablensky, A., Korten, A., Ernberg, G., Anker, M., Cooper, J. E. et al. (1986). Early manifestations and first-contact incidence of schizophrenia in different cultures. A preliminary report on the initial evaluation phase of the WHO Collaborative Study on determinants of outcome of severe mental disorders. *Psychological Medicine*, *16*, 909-928.
- Schiffman, J., Ekstrom, M., LaBrie, J., Schulsinger, F., Sorensen, H., & Mednick, S. (2002). Minor physical anomalies and schizophrenia spectrum disorders: a prospective investigation. *American Journal of Psychiatry*, *159*, 238-243.
- Schneider, K. (1959). *Clinical psychopathology*. (5th ed.) Oxford, England: Grune & Stratton Clinical psychopathology.
- Schneider, K. (1971). *Las personalidades psicopáticas*. Madrid: Morata.
- Schneider, K. (1975). *Patopsicología Clínica*. (4ª ed.) Madrid: Paz Montalvo.
- Schumacher, J., Jamra, R. A., Freudenberg, J., Becker, T., Ohlraun, S., Otte, A. C. et al. (2004). Examination of G72 and D-amino-acid oxidase as genetic risk factors for schizophrenia and bipolar affective disorder. *Molecular Psychiatry*, *9*, 203-207.
- Schwab, S. G., Knapp, M., Mondabon, S., Hallmayer, J., Borrmann-Hassenbach, M., Albus, M. et al. (2003). Support for association of schizophrenia with genetic variation in the 6p22.3 gene, dysbindin, in sib-pair families with linkage and in an additional sample of triad families. *American Journal of Human Genetics*, *72*, 185-190.
- Selemon, L. D. & Goldman-Rakic, P. S. (1999). The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia. *Biological Psychiatry*, *45*, 17-25.
- Septhy, A. A., Potvin, S., Elie, R., & Stip, E. (2007). Selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) add-on therapy for the negative symptoms of schizophrenia: a meta-analysis. *Journal of Clinical Psychiatry*, *68*, 604-610.
- Sestan, N., Artavanis-Tsakonas, S., & Rakic, P. (1999). Contact-dependent inhibition of cortical neurite growth mediated by notch signaling. *Science*, *286*, 741-746.
- \* Shah, A. K., Tioleco, N. M., Nolan, K., Locker, J., Groh, K., Villa, C. et al. (2010). Rare NRXN1 promoter variants in patients with schizophrenia. *Neuroscience Letters*, *475*, 80-84.

- Shao, H., Burrage, L. C., Sinasac, D. S., Hill, A. E., Ernest, S. R., O'Brien, W. et al. (2008). Genetic architecture of complex traits: large phenotypic effects and pervasive epistasis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*, 19910-19914.
- Shapiro-Reznik, M., Jilg, A., Lerner, H., Earnest, D. J., & Zisapel, N. (2012). Diurnal rhythms in neurexins transcripts and inhibitory/excitatory synapse scaffold proteins in the biological clock. *PLoS One*, *7*, e37894.
- Sharma, T. & Harvey, P. (2000). *Cognition in schizophrenia. Impairments, importance and treatment strategies*. Nueva York: Oxford University Press.
- Shaw, S. H., Kelly, M., Smith, A. B., Shields, G., Hopkins, P. J., Loftus, J. et al. (1998). A genome-wide search for schizophrenia susceptibility genes. *American Journal of Medical Genetics.*, *81*, 364-376.
- Sherrington, R., Brynjolfsson, J., Petursson, H., Potter, M., Dudleston, K., Barraclough, B. et al. (1988). Localization of a susceptibility locus for schizophrenia on chromosome 5. *Nature*, *336*, 164-167.
- Siddiqui, T. J., Pancaroglu, R., Kang, Y., Rooyakkers, A., & Craig, A. M. (2010). LRRTMs and neuroligins bind neurexins with a differential code to cooperate in glutamate synapse development. *Journal of Neuroscience*, *30*, 7495-7506.
- Silverman, J. (1964). The problem of attention in research and theory in schizophrenia. *Psychological Review*, *71*, 352-379.
- Silverman, J. M., Greenberg, D. A., Altstiel, L. D., Siever, L. J., Mohs, R. C., Smith, C. J. et al. (1996). Evidence of a locus for schizophrenia and related disorders on the short arm of chromosome 5 in a large pedigree. *American Journal of Medical Genetics.*, *67*, 162-171.
- Singh, S. M., Murphy, B., & O'Reilly, R. (2002). Epigenetic contributors to the discordance of monozygotic twins. *Clinical Genetics*, *62*, 97-103.
- Sklar, P. (2002). Linkage analysis in psychiatric disorders: the emerging picture. *Annu.Rev.Genomics Human Genetics*, *3*, 371-413.
- Slater, E. (1947). Genetical causes of schizophrenic symptoms. *Monatsschrift für Psychiatrie und Neurologie*, *113*, 50-58.
- Slater, E. (1958). The monogenic theory of schizophrenia. *Acta genetica et statistica medica*, *8*, 50-56.
- Slater, E. (1969). [Genetic factors and schizophrenia]. *Vestnik Akademii Meditsinskikh Nauk SSSR*, *24*, 75-79.
- Souza, R. P., Meltzer, H. Y., Lieberman, J. A., Le, F. B., & Kennedy, J. L. (2010). Influence of neurexin 1 (NRXN1) polymorphisms in clozapine response. *Human Psychopharmacology*, *25*, 582-585.
- Soysal, Y., Vermeesch, J., Davani, N. A., Hekimler, K., & Imirzalioglu, N. (2011). A 10.46 Mb 12p11.1-12.1 interstitial deletion coincident with a 0.19 Mb NRXN1 deletion detected by array CGH in a girl with scoliosis and autism. *American Journal of Medical Genetics A*, *155A*, 1745-1752.
- Spielman, R. S. & Ewens, W. J. (1996). The TDT and other family-based tests for linkage disequilibrium and association. *American Journal of Human Genetics*, *59*, 983-989.
- Spurlock, G., Heils, A., Holmans, P., Williams, J., D'Souza, U. M., Cardno, A. et al. (1998). A family based association study of T102C polymorphism in 5HT2A and schizophrenia plus identification of new polymorphisms in the promoter. *Molecular Psychiatry*, *3*, 42-49.
- St, C. D., Blackwood, D., Muir, W., Carothers, A., Walker, M., Spowart, G. et al. (1990). Association within a family of a balanced autosomal translocation with major mental illness. *Lancet*, *336*, 13-16.
- Stark, K. L., Xu, B., Bagchi, A., Lai, W. S., Liu, H., Hsu, R. et al. (2008). Altered brain microRNA biogenesis contributes to phenotypic deficits in a 22q11-deletion mouse model. *Nature Genetics*, *40*, 751-760.

- Stefansson, H., Sigurdsson, E., Steinthorsdottir, V., Bjornsdottir, S., Sigmundsson, T., Ghosh, S. et al. (2002). Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. *American Journal of Human Genetics*, *71*, 877-892.
- Stefansson, H., Sarginson, J., Kong, A., Yates, P., Steinthorsdottir, V., Gudfinnsson, E. et al. (2003). Association of neuregulin 1 with schizophrenia confirmed in a Scottish population. *American Journal of Human Genetics*, *72*, 83-87.
- Stefansson, H., Rujescu, D., Cichon, S., Pietilainen, O. P., Ingason, A., Steinberg, S. et al. (2008). Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature*, *455*, 232-236.
- Steme, J. A. C. & Egger, M. (2005). Regression methods to detect publication and other bias in meta-analysis. In H.R.Rothstein, A. J. Sutton, & M. Borestein (Eds.), *Publication bias in meta-analysis: Prevention, assessment and adjustments*. (pp. 99-100). Chichester, UK: Wiley.
- Stephan, K. E., Baldeweg, T., & Friston, K. J. (2006). Synaptic plasticity and dysconnection in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, *59*, 929-939.
- \* Stewart, L. R., Hall, A. L., Kang, S. H., Shaw, C. A., & Beaudet, A. L. (2011). High frequency of known copy number abnormalities and maternal duplication 15q11-q13 in patients with combined schizophrenia and epilepsy. *BMC Medical Genetics*, *12*, 154.
- Stewart, R. (2003). Inference 2: Causalita. In M.Prince, R. Stewart, T. Ford, & M. Hotopf (Eds.), *Practical psychiatric epidemiology* (pp. 239-253). Oxford: Oxford University Press.
- Stober, G., Saar, K., Ruschendorf, F., Meyer, J., Nurnberg, G., Jatzke, S. et al. (2000). Splitting schizophrenia: periodic catatonia-susceptibility locus on chromosome 15q15. *American Journal of Human Genetics*, *67*, 1201-1207.
- Stone, W. S., Faraone, S. V., Seidman, L. J., Green, A. I., Wojcik, J. D., & Tsuang, M. T. (2001). Concurrent validation of schizotaxia: a pilot study. *Biological Psychiatry*, *50*, 434-440.
- Strachan, T. & Read, A. P. (2001). *Human molecular genetics*. (2<sup>a</sup> ed.) Oxford: Bios Scientific Publishers.
- Straub, R. E., MacLean, C. J., O'Neill, F. A., Walsh, D., & Kendler, K. S. (1997). Support for a possible schizophrenia vulnerability locus in region 5q22-31 in Irish families. *Molecular Psychiatry*, *2*, 148-155.
- Straub, R. E., Jiang, Y., MacLean, C. J., Ma, Y., Webb, B. T., Myakishev, M. V. et al. (2002). Genetic variation in the 6p22.3 gene DTNBP1, the human ortholog of the mouse dysbindin gene, is associated with schizophrenia. *American Journal of Human Genetics*, *71*, 337-348.
- Sudhof, T. C. (2004). The synaptic vesicle cycle. *Annual Review of Neuroscience*, *27*, 509-547.
- Sudhof, T. C. (2008). Neuroligins and neuroligins link synaptic function to cognitive disease. *Nature*, *455*, 903-911.
- Sugita, S., Khvochtev, M., & Sudhof, T. C. (1999). Neuroligins are functional alpha-latrotoxin receptors. *Neuron*, *22*, 489-496.
- Sugita, S., Saito, F., Tang, J., Satz, J., Campbell, K., & Sudhof, T. C. (2001). A stoichiometric complex of neuroligins and dystroglycan in brain. *Journal of Cell Biology*, *154*, 435-445.
- Sukumar, S., Wang, S., Hoang, K., Vanchiere, C. M., England, K., Fick, R. et al. (1999). Subtle overlapping deletions in the terminal region of chromosome 6q24.2-q26: three cases studied using FISH. *American Journal of Medical Genetics.*, *87*, 17-22.
- Sundquist, K., Frank, G., & Sundquist, J. (2004). Urbanisation and incidence of psychosis and depression: follow-up study of 4.4 million women and men in Sweden. *British Journal of Psychiatry*, *184*, 293-298.
- Svensson, A. C., Lichtenstein, P., Sandin, S., & Hultman, C. M. (2007). Fertility of first-degree relatives of patients with schizophrenia: a three generation perspective. *Schizophrenia Research*, *91*, 238-245.
- Tabares-Seisdedos, R., Dumont, N., Baudot, A., Valderas, J. M., Climent, J., Valencia, A. et al. (2011). No paradox, no progress: inverse cancer comorbidity in people with other complex diseases. *Lancet Oncology*, *12*, 604-608.

- Takase, K., Ohtsuki, T., Migita, O., Toru, M., Inada, T., Yamakawa-Kobayashi, K. et al. (2001). Association of ZNF74 gene genotypes with age-at-onset of schizophrenia. *Schizophrenia Research*, *52*, 161-165.
- Tandon, R. & Greden, J. F. (1989). Cholinergic hyperactivity and negative schizophrenic symptoms. A model of cholinergic/dopaminergic interactions in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, *46*, 745-753.
- Tang, J. X., Chen, W. Y., He, G., Zhou, J., Gu, N. F., Feng, G. Y. et al. (2004). Polymorphisms within 5' end of the Neuregulin 1 gene are genetically associated with schizophrenia in the Chinese population. *Molecular Psychiatry*, *9*, 11-12.
- Taniguchi, H., Gollan, L., Scholl, F. G., Mahadomrongkul, V., Dobler, E., Limthong, N. et al. (2007). Silencing of neuroligin function by postsynaptic neurexins. *Journal of Neuroscience*, *27*, 2815-2824.
- Thaker, G. K. (2008). Neurophysiological endophenotypes across bipolar and schizophrenia psychosis. *Schizophrenia Bulletin*, *34*, 760-773.
- The Cochrane Collaboration (2014). Review Manager (RevMan) (Version 5.3) [Computer software]. Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre.
- The International HapMap Consortium (2005). A haplotype map of the human genome. *Nature*, *437*, 1299-1320.
- Thompson, J. L., Pogue-Geile, M. F., & Grace, A. A. (2004). Developmental pathology, dopamine, and stress: a model for the age of onset of schizophrenia symptoms. *Schizophrenia Bulletin*, *30*, 875-900.
- Thomson, P. A., Wray, N. R., Millar, J. K., Evans, K. L., Hellard, S. L., Condie, A. et al. (2005). Association between the TRAX/DISC locus and both bipolar disorder and schizophrenia in the Scottish population. *Molecular Psychiatry*, *10*, 657-68, 616.
- Tienari, P., Lahti, I., Sorri, A., Naarala, M., Moring, J., Wahlberg, K. E. et al. (1987). The Finnish adoptive family study of schizophrenia. *Journal of Psychiatric Research*, *21*, 437-445.
- Tienari, P., Wynne, L. C., Moring, J., Laksy, K., Nieminen, P., Sorri, A. et al. (2000). Finnish adoptive family study: sample selection and adoptee DSM-III-R diagnoses. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *101*, 433-443.
- \* Todarello, G., Feng, N., Kolachana, B. S., Li, C., Vakkalanka, R., Bertolino, A. et al. (2014). Incomplete penetrance of NRXN1 deletions in families with schizophrenia. *Schizophrenia Research*, *155*, 1-7.
- Toirac, I., Sanjuan, J., Aguilar, E. J., Gonzalez, J. C., Artigas, F., Rivero, O. et al. (2007). Association between CCK-AR gene and schizophrenia with auditory hallucinations. *Psychiatric Genetics*, *17*, 47-53.
- Tomppo, L., Hennah, W., Miettunen, J., Jarvelin, M. R., Veijola, J., Ripatti, S. et al. (2009). Association of variants in DISC1 with psychosis-related traits in a large population cohort. *Archives of General Psychiatry*, *66*, 134-141.
- Tsai, G. & Coyle, J. T. (2002). Glutamatergic mechanisms in schizophrenia. *The Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *42*, 165-179.
- Tsai, S. J., Hong, C. J., Hou, S. J., & Yen, F. C. (2006). Lack of association of catechol-O-methyltransferase gene Val108/158Met polymorphism with schizophrenia: a family-based association study in a Chinese population. *Molecular Psychiatry*, *11*, 2-3.
- Tsuang, M. & Faraone, S. V. (1997). *Schizophrenia: The facts*. Oxford: Oxford University Press.
- Tsuang, M. T., Stone, W. S., & Faraone, S. V. (1999). Schizophrenia: a review of genetic studies. *Harvard Review of Psychiatry*, *7*, 185-207.
- Tsuang, M. T., Stone, W. S., Tarbox, S. I., & Faraone, S. V. (2002). An integration of schizophrenia with schizotypy: identification of schizotaxia and implications for research on treatment and prevention. *Schizophrenia Research*, *54*, 169-175.



- Tsujita, T., Niikawa, N., Yamashita, H., Imamura, A., Hamada, A., Nakane, Y. et al. (1998). Genomic discordance between monozygotic twins discordant for schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*, *155*, 422-424.
- Ujike, H., Takehisa, Y., Takaki, M., Tanaka, Y., Nakata, K., Takeda, T. et al. (2001). NOTCH4 gene polymorphism and susceptibility to schizophrenia and schizoaffective disorder. *Neuroscience Letters*, *301*, 41-44.
- Ullrich, B., Ushkaryov, Y. A., & Sudhof, T. C. (1995). Cartography of neurexins: more than 1000 isoforms generated by alternative splicing and expressed in distinct subsets of neurons. *Neuron*, *14*, 497-507.
- Ushkaryov, Y. A., Petrenko, A. G., Geppert, M., & Sudhof, T. C. (1992). Neurexins: synaptic cell surface proteins related to the alpha-latrotoxin receptor and laminin. *Science*, *257*, 50-56.
- Ushkaryov, Y. A. & Sudhof, T. C. (1993). Neurexin III alpha: extensive alternative splicing generates membrane-bound and soluble forms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *90*, 6410-6414.
- Ushkaryov, Y. A., Hata, Y., Ichtchenko, K., Moomaw, C., Afendis, S., Slaughter, C. A. et al. (1994). Conserved domain structure of beta-neurexins. Unusual cleaved signal sequences in receptor-like neuronal cell-surface proteins. *Journal of Biological Chemistry*, *269*, 11987-11992.
- Vallejo, J. & Leal, C. (2010). *Tratado de Psiquiatría*. (2ª ed.) (vols. I) Barcelona: Grupo Ars Xxi De Comunicacion.
- Vamathevan, J. J., Hasan, S., Emes, R. D., Amrine-Madsen, H., Rajagopalan, D., Topp, S. D. et al. (2008). The role of positive selection in determining the molecular cause of species differences in disease. *BMC Evolutionary Biology*, *8*, 273.
- \* Van Den Bossche, M. J., Johnstone, M., Strazisar, M., Pickard, B. S., Goossens, D., Lenaerts, A. S. et al. (2012). Rare copy number variants in neuropsychiatric disorders: Specific phenotype or not? *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric genetics*, *159B*, 812-822.
- Van Den Bossche, M. J., Strazisar, M., Cammaerts, S., Liekens, A. M., Vandeweyer, G., Depreeuw, V. et al. (2013). Identification of rare copy number variants in high burden schizophrenia families. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric genetics*, *162B*, 273-282.
- Van Essen, D. C. (2013). Cartography and connectomes. *Neuron*, *80*, 775-790.
- van Haren, N. E., Bakker, S. C., & Kahn, R. S. (2008). Genes and structural brain imaging in schizophrenia. *Current opinion in Psychiatry*, *21*, 161-167.
- van, O. J., Fahy, T. A., Bebbington, P., Jones, P., Wilkins, S., Sham, P. et al. (1994). The influence of life events on the subsequent course of psychotic illness. A prospective follow-up of the Camberwell Collaborative Psychosis Study. *Psychological Medicine*, *24*, 503-513.
- van, O. J. & Marcelis, M. (1998). The ecogenetics of schizophrenia: a review. *Schizophrenia Research*, *32*, 127-135.
- van, O. J., Hanssen, M., Bijl, R. V., & Vollebergh, W. (2001). Prevalence of psychotic disorder and community level of psychotic symptoms: an urban-rural comparison. *Archives of General Psychiatry*, *58*, 663-668.
- van, O. J., Rutten, B. P., & Poulton, R. (2008). Gene-environment interactions in schizophrenia: review of epidemiological findings and future directions. *Schizophrenia Bulletin*, *34*, 1066-1082.
- van, O. J., Linscott, R. J., Myin-Germeys, I., Delespaul, P., & Krabbendam, L. (2009). A systematic review and meta-analysis of the psychosis continuum: evidence for a psychosis proneness-persistence-impairment model of psychotic disorder. *Psychological Medicine*, *39*, 179-195.
- Vawter, M. P., Barrett, T., Cheadle, C., Sokolov, B. P., Wood, W. H., III, Donovan, D. M. et al. (2001). Application of cDNA microarrays to examine gene expression differences in schizophrenia. *Brain Research Bulletin*, *55*, 641-650.
- Vawter, M. P., Crook, J. M., Hyde, T. M., Kleinman, J. E., Weinberger, D. R., Becker, K. G. et al. (2002). Microarray analysis of gene expression in the prefrontal cortex in schizophrenia: a preliminary study. *Schizophrenia Research*, *58*, 11-20.

- Vazquez-Barquero, J. L., Cuesta Nunez, M. J., de, I., V, Herrera, C. S., Gaité, L., & Arenal, A. (1995). The Cantabria first episode schizophrenia study: a summary of general findings. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *91*, 156-162.
- Vilella, E., Costas, J., Sanjuan, J., Guitart, M., De, D. Y., Carracedo, A. et al. (2008). Association of schizophrenia with DTNBP1 but not with DAO, DAOA, NRG1 and RGS4 nor their genetic interaction. *Journal of Psychiatric Research*, *42*, 278-288.
- Virgos, C., Martorell, L., Valero, J., Figuera, L., Civeira, F., Joven, J. et al. (2001). Association study of schizophrenia with polymorphisms at six candidate genes. *Schizophrenia Research*, *49*, 65-71.
- von, E. E., Altman, D. G., Egger, M., Pocock, S. J., Gotzsche, P. C., & Vandenbroucke, J. P. (2007). The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *PLoS Medicine*, *4*, e296.
- von, E. E., Altman, D. G., Egger, M., Pocock, S. J., Gotzsche, P. C., & Vandenbroucke, J. P. (2008). The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Journal of Clinical Epidemiology*, *61*, 344-349.
- von, E. E., Altman, D. G., Egger, M., Pocock, S. J., Gotzsche, P. C., & Vandenbroucke, J. P. (2014). The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *International Journal of Surgery*, *12*, 1495-1499.
- \* Vrijenhoek, T., Buizer-Voskamp, J. E., van, d. S., I, Strengman, E., Sabatti, C., Geurts van, K. A. et al. (2008). Recurrent CNVs disrupt three candidate genes in schizophrenia patients. *American Journal of Human Genetics*, *83*, 504-510.
- Waddington, C. H. (1942). Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature*, *50*, 563-565.
- Waddington, J. L., Corvin, A. P., Donohoe, G., O'Tuathaigh, C. M., Mitchell, K. J., & Gill, M. (2007). Functional genomics and schizophrenia: endophenotypes and mutant models. *Psychiatric Clinics of North America*, *30*, 365-399.
- Walsh, T., McClellan, J. M., McCarthy, S. E., Addington, A. M., Pierce, S. B., Cooper, G. M. et al. (2008). Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science*, *320*, 539-543.
- Walsh, T., McClellan, J. M., McCarthy, S. E., Addington, A. M., Pierce, S. B., Cooper, G. M. et al. (2008). Rare structural variants disrupt multiple genes in neurodevelopmental pathways in schizophrenia. *Science*, *320*, 539-543.
- Wan, C., Yang, Y., Li, H., La, Y., Zhu, H., Jiang, L. et al. (2006). Dysregulation of retinoid transporters expression in body fluids of schizophrenia patients. *Journal of Proteome Research*, *5*, 3213-3216.
- Wan, C., La, Y., Zhu, H., Yang, Y., Jiang, L., Chen, Y. et al. (2007). Abnormal changes of plasma acute phase proteins in schizophrenia and the relation between schizophrenia and haptoglobin (Hp) gene. *Amino Acids*, *32*, 101-108.
- Wei, J. & Hemmings, G. P. (1999). The CCK-A receptor gene possibly associated with auditory hallucinations in schizophrenia. *European Psychiatry*, *14*, 67-70.
- Wei, J. & Hemmings, G. P. (2000). The NOTCH4 locus is associated with susceptibility to schizophrenia. *Nature Genetics*, *25*, 376-377.
- Weinberger, D. R. (1987). Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, *44*, 660-669.
- Weinberger, D. R. & Lipska, B. K. (1995). Cortical maldevelopment, anti-psychotic drugs, and schizophrenia: a search for common ground. *Schizophrenia Research*, *16*, 87-110.
- Weinberger, D. R., Egan, M. F., Bertolino, A., Callicott, J. H., Mattay, V. S., Lipska, B. K. et al. (2001). Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia. *Biological Psychiatry*, *50*, 825-844.
- Westermeyer, J. F. & Harrow, M. (1984). Prognosis and outcome using broad (DSM-II) and narrow (DSM-III) concepts of schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, *10*, 624-637.

- Williams, J., Spurlock, G., McGuffin, P., Mallet, J., Nothen, M. M., Gill, M. et al. (1996). Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. European Multicentre Association Study of Schizophrenia (EMASS) Group. *Lancet*, *347*, 1294-1296.
- Williams, N. M., Preece, A., Morris, D. W., Spurlock, G., Bray, N. J., Stephens, M. et al. (2004). Identification in 2 independent samples of a novel schizophrenia risk haplotype of the dystrobrevin binding protein gene (DTNBP1). *Archives of General Psychiatry*, *61*, 336-344.
- Winterer, G., Egan, M. F., Radler, T., Coppola, R., & Weinberger, D. R. (2001). Event-related potentials and genetic risk for schizophrenia. *Biological Psychiatry*, *50*, 407-417.
- Wisniewiecka-Kowalnik, B., Nesteruk, M., Peters, S. U., Xia, Z., Cooper, M. L., Savage, S. et al. (2010). Intragenic rearrangements in NRXN1 in three families with autism spectrum disorder, developmental delay, and speech delay. *American Journal of Medical Genetics B Neuropsychiatric Genetics*, *153B*, 983-993.
- World Health Organization. (1938). *International list of causes of death*. (5<sup>a</sup> ed.) Ginebra: WHO.
- World Health Organization. (1948). *Manual of the International statistical classification of disease, injuries and causes of death*. Ginebra: WHO.
- World Health Organization. (1967). *International classification of diseases, injuries and causes of death*. (8<sup>a</sup> ed.) Ginebra: WHO.
- Wu, Q. & Maniatis, T. (1999). A striking organization of a large family of human neural cadherin-like cell adhesion genes. *Cell*, *97*, 779-790.
- Wyatt, R. J., Benedict, T. A., & Davis, J. (1971). Biochemical and sleep studies of schizophrenia: A review of the literature-1960-1970. *Schizophrenia Bulletin*, *1*, 10-66.
- Xu, B., Roos, J. L., Levy, S., van Rensburg, E. J., Gogos, J. A., & Karayiorgou, M. (2008). Strong association of de novo copy number mutations with sporadic schizophrenia. *Nature Genetics*, *40*, 880-885.
- \* Ye, T., Lipska, B. K., Tao, R., Hyde, T. M., Wang, L., Li, C. et al. (2012). Analysis of copy number variations in brain DNA from patients with schizophrenia and other psychiatric disorders. *Biological Psychiatry*, *72*, 651-654.
- Yeo, R. A., Gangestad, S. W., Edgar, C., & Thoma, R. (1999). The evolutionary genetic underpinnings of schizophrenia: the developmental instability model. *Schizophrenia Research*, *39*, 197-206.
- Young, D. A., Waldo, M., Rutledge, J. H., III, & Freedman, R. (1996). Heritability of inhibitory gating of the P50 auditory-evoked potential in monozygotic and dizygotic twins. *Neuropsychobiology*, *33*, 113-117.
- Yue, H., Eastman, P. S., Wang, B. B., Minor, J., Doctolero, M. H., Nuttall, R. L. et al. (2001). An evaluation of the performance of cDNA microarrays for detecting changes in global mRNA expression. *Nucleic Acids Research*, *29*, E41.
- Yue, W., Yang, Y., Zhang, Y., Lu, T., Hu, X., Wang, L. et al. (2011). A case-control association study of NRXN1 polymorphisms with schizophrenia in Chinese Han population. *Behavioral and Brain Functions*, *7*, 7.
- Zaboli, G., Jonsson, E. G., Gizatullin, R., De, F. A., Asberg, M., & Leopardi, R. (2008). Haplotype analysis confirms association of the serotonin transporter (5-HTT) gene with schizophrenia but not with major depression. *American Journal of Medical Genetics.B Neuropsychiatric genetics*, *147*, 301-307.
- Zahir, F. R., Baross, A., Delaney, A. D., Eydoux, P., Fernandes, N. D., Pugh, T. et al. (2008). A patient with vertebral, cognitive and behavioural abnormalities and a de novo deletion of NRXN1alpha. *Journal of Medical Genetics*, *45*, 239-243.
- Zeng, X., Sun, M., Liu, L., Chen, F., Wei, L., & Xie, W. (2007). Neurexin-1 is required for synapse formation and larvae associative learning in Drosophila. *FEBS Letters*, *581*, 2509-2516.

- Zhang, W., Rohlmann, A., Sargsyan, V., Aramuni, G., Hammer, R. E., Sudhof, T. C. et al. (2005). Extracellular domains of alpha-neurexins participate in regulating synaptic transmission by selectively affecting N- and P/Q-type Ca<sup>2+</sup> channels. *Journal of Neuroscience*, 25, 4330-4342.
- Zweier, C., de Jong, E. K., Zweier, M., Orrico, A., Ousager, L. B., Collins, A. L. et al. (2009). CNTNAP2 and NRXN1 are mutated in autosomal-recessive Pitt-Hopkins-like mental retardation and determine the level of a common synaptic protein in Drosophila. *American Journal of Human Genetics*, 85, 655-666.

## ANEXOS

---

**Meta-análisis de las variantes del *NRXN1* y  
los Trastornos del Espectro Psicótico**

**MANUAL DE CODIFICACIÓN  
DE VARIABLES MODERADORAS**

## I.Introducción

El objetivo de este manual es desarrollar con detalle el proceso de codificación de las variables moderadoras que se considerarán en el meta-análisis. Por ello, se definirá cada variable moderadora, sus diferentes categorías posibles, la forma de codificación y qué hacer cuando un estudio empírico provee información incompleta o insuficiente para la valoración.

## II.Variables

Las variables codificadas están agrupadas en Variables Moderadoras y Variables de Resultado.

### A.- VARIABLES MODERADORAS

Las variables moderadoras están clasificadas en los siguientes tipos:

- (1) **Variables Sustantivas:** Son variables moderadoras relacionadas con el objetivo del meta-análisis. A su vez, están clasificados en:
  - (a) Variables de enfermedad (Trastorno del Espectro Psicótico): Concerniente a las características de la enfermedad a analizar. Por ejemplo, el tipo de tratamiento, los instrumentos diagnósticos utilizados.
  - (b) Variables relacionadas con el marcador genético: Por ejemplo, polimorfismos analizados.
  - (c) Variables de contexto: Concerniente al ambiente o el contexto en el que tiene lugar el estudio. Por ejemplo, la localización/país del que se obtuvo la muestra, de dónde se obtuvieron las muestras.
  - (d) Variables de sujeto: Relacionado con las características de las poblaciones de los individuos que se están estudiando. Por ejemplo, la edad media de la muestra de pacientes.
- (2) **Variables metodológicas:** Son aquellas relacionadas con el diseño de la investigación, la metodología empleada, el control de variables externas, etc... Por ejemplo, el tipo de grupo control, el tipo de genotipado usado o el método de validación del genotipado.
- (3) **Variables extrínsecas:** Estas variables no están directamente involucradas con el objetivo del estudio, pero afectan a sus resultados. Por ejemplo, el hecho de que el estudio empírico está publicado o no.

## B.- VARIABLES DE RESULTADO

Las variables de resultado reflejan los resultados obtenidos por los autores originales y contribuyen en el estudio.

### III. Análisis unitario

La unidad de análisis serán estudios (mejor que informes) para asegurar que los datos no han sido contabilizados de forma duplicada. Por eso, en el caso de múltiples artículos del mismo estudio, sólo se incluirán los resultados de la publicación con el mayor número de participantes.

Los estudios de casos y controles que informen del genotipo o la frecuencia alélica del factor genético en los casos con Trastorno del Espectro Psicótico (TEP) y en los controles sanos, se seleccionarán para la inclusión en la revisión sistemática.

En caso de varios diagnósticos psiquiátricos descritos en un estudio, se extraerán de forma separada los datos de los siguientes Trastornos del Espectro Psicótico<sup>(\*)</sup>: Esquizofrenia, Trastorno Psicótico, Trastorno Esquizoafectivo y Psicosis.

El manual de codificación de variables moderadoras se aplicará independientemente a todos los estudios o documentos seleccionados y a cada grupo de comparación de casos y controles.

### IV. Explicación de variables

**CÓDIGO del Artículo:** \_\_\_\_\_ identificar cada artículo con el número asignado previamente tras la valoración de los criterios de inclusión.

#### a. Criterios de inclusión

1.	<b>DisEst:</b> Diseño observacional del estudio 0. No 1. Sí
1.1	<b>TipDis:</b> Tipo de diseño (sólo sí la variable anterior es Sí) 1. Casos y controles 2. Transversal 3. Cohortes



2.	<b>CasTep:</b> Casos con Trastorno del Espectro Psicótico* y datos genéticos del gen <i>NRXNI</i> (neurexina 1 o 2p16.3) 0. No 1. Sí
3.	<b>ContGen:</b> Grupo control con datos genéticos del gen <i>NRXNI</i> (neurexina 1 o 2p16.3) 0. No 1. Sí

### b. Criterios de exclusión

11.	<b>DisNo:</b> Diseño no adecuado 0. No 1. Sí
11.1	<b>TipDisNo:</b> Tipo de diseño no adecuado ( sólo si el anterior es No) 1. Experimental (con animales) 2. Revisión 3. Caso o series de casos 4. Diseños basados en la familia 5. Estudios de población 6. Otros
12.	<b>OtrFen:</b> Toda la muestra con otros fenotipos distintos al espectro psicótico 0. No 1. Sí

### c. Variables extrínsecas

21.	<b>AutNum:</b> Número de autores del estudio
22.	<b>Estado:</b> Estado de la información 0. No publicado 1. Publicado
23.	<b>StudAño:</b> Año de finalización del estudio
24.	<b>PubAño:</b> Año de publicación del estudio (si no publicado codificar como 9999)
25.	<b>Fuente:</b> 1. Artículo de revista 2. Capítulo de libro 3. Libro / monografía 4. Manuscrito no publicado 5. Comunicación a congreso 6. Informe técnico 7. Tesis Doctoral 8. Otros (Especificar: ) 9. NS/NC

#### d. Variables de contexto

31.	<b>País:</b> País donde se realizó el estudio y del que provienen las muestras (Anotar: ...)
32.	<b>Lugar:</b> Centro responsable del estudio

#### V. Variables de sujeto

	<b>Casos</b>			<b>Controles</b>	
41.	<b>TMCas:</b> Tamaño muestral en casos		42.	<b>TMCon:</b> Tamaño muestral en controles	
43.	<b>NMuCas:</b> N° de mujeres en casos		44.	<b>NMuCon:</b> N° mujeres en controles	
45.	<b>NHCas:</b> N° de hombres en casos		46.	<b>NHCon:</b> N° de hombres en controles	
47.	<b>EdadCas:</b> Edad media de casos o rango (anotar desviación típica si es posible)		48.	<b>EdadCon:</b> Edad media de controles o rango (anotar desviación típica si es posible)	
49.	<b>Ancest:</b> se valora la etnia de los participantes 0. No 1. Sí				
50.	<b>EtnCas:</b> Antecedentes étnicos de casos (Anotar la distribución en porcentajes) 1. Caucásico 2. Afro-americano 3. Asiático 4. Población mixta 9. NS/NC				
51.	<b>EtnCon:</b> Antecedentes étnicos de controles (Anotar la distribución en porcentajes) 1. Caucásico 2. Afro-americano 3. Asiático 4. Población mixta 9. NS/NC				

#### VI. Variables de la enfermedad

61.	<b>CasTip:</b> Tipo de trastorno psicótico diagnosticado en casos (Anotar la distribución en porcentajes si es posible) 1. Esquizofrenia 2. Trastorno Psicótico 3. Trastorno Esquizoafectivo 4. Psicosis 5. Varios diagnósticos de psicosis
62.	<b>CasVal:</b> Valoración estandarizada del TEP mediante un instrumento diagnóstico en

	casos 0. No 1. Sí 9. No respuesta
63.	<b>CasMet:</b> Método de valoración utilizado en casos 1. Escala Estandarizada 2. Autorregistro 3. Entrevista clínica 4. Asociación de registros/historia clínica 5. Entrevista clínica e historia clínica 6. Escala Estandarizada, entrevista clínica e historia clínica 9. NS/NC
64.	<b>ConVal:</b> Valoración estandarizada del TEP mediante un instrumento diagnóstico en controles 0. No 1. Sí 9. No respuesta
65.	<b>ConMet:</b> Método de valoración utilizado para descartar TEP en controles 1. Escala Estandarizada 2. Autoregistro 3. Entrevista clínica 4. Asociación de registros/historia clínica 5. Entrevista clínica e historia clínica 6. Escala estandarizada y entrevista clínica 9. NS/NC
66.	<b>ValInst:</b> Utilización del mismo instrumento diagnóstico en casos y controles 0. No 1. Sí 9. NS/NC
67.	<b>Instru:</b> Describir el instrumento utilizado para la valoración del TEP (anotarla)
68.	<b>ComCas:</b> Miden la comorbilidad psiquiátrica (patología psiquiátrica concomitante) en casos 0. No 1. Sí 9. NS/NC (Nota: recoger el tipo de comorbilidad y número (%) de cada uno de ellos si lo presentan)
69.	<b>ComCon:</b> Miden la comorbilidad psiquiátrica en controles (incluyendo suicidio y consumo de drogas) 0. No 1. Sí 9. NS/NC (Nota: recoger el tipo de comorbilidad y número (%) de cada uno de ellos si lo presentan)
70.	<b>HisFam:</b> Historia familiar de TEP 0. No 1. Sí 9. NS/NC
71.	<b>TipHfam:</b> Describir el tipo de historia familiar (anotarla)
72.	<b>Period:</b> Período de tiempo valorado el TEP 1. A lo largo de la vida 2. En el último año 3. En los últimos 6 meses 9. No lo especifica
73.	<b>EscaTip:</b> Tipo de escala clínica usada 1. Homogéneo a caso-control 2. Heterogéneo a caso-control 3. No escala clínica usada en controles 9. No lo especifica

74.	<p><b>EscaPun:</b> Medida de la puntuación media de la escala clínica</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Misma en casos y controles</li> <li>2. Diferente en casos y controles</li> <li>3. Sí, pero sólo en casos</li> <li>4. No medida de la puntuación media en casos o controles</li> <li>9. No lo especifica</li> </ol>
75.	<p><b>TipPru:</b> Tipo de prueba clínica usada</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Homogéneo a caso-control</li> <li>2. Heterogéneo a case-control</li> <li>3. No prueba clínica usada en controles</li> <li>9. No lo especifica</li> </ol>

## VII. Características del marcador genético

81.	<p><b>Heren:</b> Se identifica algún tipo de herencia</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>0. No</li> <li>1. Sí</li> </ol>
82.	<p><b>TipHeren:</b> Describir el tipo de herencia referenciado (anotarla)</p>
83.	<p><b>TipGen:</b> Tipo de alteración genética hallada:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Deleciones del <i>NRXNI</i> (Delección: pérdida de un fragmento de ADN de un cromosoma. Traducción inglés: <i>deletion.</i>)</li> <li>2. Inserciones del <i>NRXNI</i> (Inserción: tipo de mutación que implica la adición de material genético. Traducción inglés: <i>insertion.</i>)</li> <li>3. Duplicaciones del <i>NRXNI</i> (Duplicación: proceso mediante el cual, a partir de una molécula de ADN, se obtiene otra molécula idéntica. Traducción inglés: <i>duplication.</i>)</li> <li>4. Polimorfismos (o variantes) del <i>NRXNI</i>: (Polimorfismo, variante, alelismo: existencia de varios alelos, es decir, formas diferentes de un mismo gen, en una población; variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población. Traducción inglés: <i>polymorphism, variant, allelism.</i>)</li> <li>5. Deleciones e inserciones del <i>NRXNI</i></li> <li>6. Deleciones y duplicaciones del <i>NRXNI</i></li> <li>7. Deleciones y polimorfismos del <i>NRXNI</i></li> <li>8. Inserciones y duplicaciones del <i>NRXNI</i></li> <li>9. Inserciones y polimorfismos del <i>NRXNI</i></li> <li>10. Duplicaciones y polimorfismos del <i>NRXNI</i></li> <li>11. Deleciones, inserciones y polimorfismos del <i>NRXNI</i></li> <li>12. Todas las alteraciones descritas previamente del <i>NRXNI</i></li> </ol>
84.	<p><b>AreGen:</b> Tipo de área genética alterada:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. AR Codificante (Exón: fragmento de ADN que está presente en un gen en la región codificadora y que codifica algún fragmento de la proteína. Traducción inglés: <i>exon.</i>)</li> <li>2. AR No codificante (Intrón: fragmento de ADN que está presente en un gen en la región codificadora pero que no codifica ningún fragmento de la proteína. Traducción inglés: <i>intron.</i>)</li> <li>3. AR Promotora (Región Promotora, Promotor: porción del ADN situada al principio del gen y que, sin codificar ningún aminoácido, sirve para que las enzimas que realizan la transcripción reconozcan el principio del gen. Traducción inglés: <i>promoter region, promoter.</i>)</li> <li>4. AR Codificante y no codificante</li> <li>5. AR Codificante y promotora</li> <li>6. AR Codificante, no codificante y promotora</li> <li>9. No lo especifica</li> </ol>
85.	<p><b>TGenCas:</b> Número casos con la variante genética</p>

	0. No 1. Sí
<b>86.</b>	<b>TGenCon:</b> Número controles con la variante genética 0. No 1. Sí
<b>87.</b>	<b>TGenDes:</b> Descripción del tipo de variante genética (anotarla)

	<b>CASOS</b> 999 No especificado		<b>CONTROLES</b> 999 No especificado
88.	<b>CaDelNRXNI:</b> N° casos con deleciones de <i>NRXNI</i>		89. <b>CoDelNRXNI:</b> N° controles con deleciones de <i>NRXNI</i>
90.	<b>CaInsNRXNI:</b> N° casos con inserciones de <i>NRXNI</i>		91. <b>CoInsNRXNI:</b> N° controles con inserciones de <i>NRXNI</i>
92.	<b>CaDupNRXNI:</b> N° casos con duplicaciones de <i>NRXNI</i>		93. <b>CoDupNRXNI:</b> N° controles con duplicaciones de <i>NRXNI</i>
94.	<b>CaPolNRXNI:</b> N° casos con polimorfismos de <i>NRXNI</i>		95. <b>CoPolNRXNI:</b> N° controles con polimorfismos de <i>NRXNI</i>
96.	<b>CaCodNRXNI:</b> N° casos con alteración de exón de <i>NRXNI</i>		97. <b>CoCodNRXNI:</b> N° controles con alteración de exón de <i>NRXNI</i>
98.	<b>CaNoCodNRXNI:</b> N° casos con alteración de intrón de <i>NRXNI</i>		99. <b>CoNoCodNRXNI:</b> N° controles con alteración de intrón de <i>NRXNI</i>
100.	<b>CaPromNRXNI:</b> N° casos con alteración del promotor de <i>NRXNI</i>		101. <b>CoPromNRXNI:</b> N° controles con alteración del promotor de <i>NRXNI</i>

<b>102.</b>	<b>MetGen:</b> Describe el método de genotipado 0. No 1. Sí
<b>103.</b>	<b>MetGDes:</b> Descripción del método de genotipado (anotarlo)
<b>104.</b>	<b>Origen:</b> Origen de la muestra biológica (descrito en la publicación): 1. Sangre 2. Saliva 3. Mucosa oral 4. Otro (descrito) 9. No especificado

### VIII. Variables metodológicas

111.	<b>Diseño:</b> Diseño del estudio 1. <b>Transversal</b> (selección transversal de los participantes y utilización de un instrumento diagnóstico para la clasificación en enfermo o no enfermo). 2. <b>Casos y controles</b> (selección de casos y controles de forma independiente en función de que tengan o no la enfermedad). 3. <b>Cohortes</b> (selección en función de la exposición o no a un evento traumático y, tras un período de seguimiento, determinan si han desarrollado o no la enfermedad). 9. NS /NC
112.	<b>RepCaso:</b> Representatividad de los casos (criterios de selección para los casos) 1. Todos los casos seleccionables con resultados de interés en el período de tiempo

	<p>definido, todos los casos de una determinada área de selección, todos los casos en un hospital o clínica definida, grupo de hospitales, organización de mantenimiento de la salud, o una muestra apropiada de alguno de estos casos (e.j. muestra aleatorizada).</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. No requisito satisfecho en la parte (1).</li> <li>9. No especificado</li> </ol>
113.	<p><b>RepCon:</b> Representatividad de los controles (criterios de selección para los controles). Este criterio valora si las series de controles usadas en el estudio derivan de la misma población que los casos y podrían haber sido casos si el resultado estuviera presente</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Controles de la comunidad (e.j. misma comunidad que los casos y serían los mismos si tuvieran resultado)</li> <li>2. Controles clínicos, dentro de la misma comunidad que los casos (e.j. no otra ciudad) pero derivados de una población hospitalizada</li> <li>3. Otro (descrito) (anotarlo)</li> <li>9. No especificado</li> </ol>
114.	<p><b>Ciego:</b> Presencia de valoración ciega del fenotipo respecto del genotipo. Ésta debe ser recogida con el personal de laboratorio ciego a los resultados y a exposiciones ambientales de interés, y si el genotipado de los casos y controles se ha realizado de forma conjunta o separada. De forma similar, se debe informar de qué personas evalúan los resultados y si las exposiciones están cegadas para los resultados del genotipado. La valoración no ciega conduce a una errónea clasificación diferencial</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>0. No</li> <li>1. Sí</li> <li>9. No especificada</li> </ol>
115.	<p><b>Cuali:</b> Información de los procedimientos de control de calidad en la metodología del genotipado. Los métodos de control de la calidad incluyen, pero no están limitados, al: reanálisis de las muestras aleatorizadas, análisis de las muestras con diferente método de genotipado, análisis de las muestras reproducidas, o secuenciación y análisis de las muestras en un control de calidad central facilitado</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>0. No</li> <li>1. Sí (describir...)</li> <li>9. No especificado</li> </ol>
116.	<p><b>Validac:</b> Técnica de validación genética aplicada para estudio de la expresión genética</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Multiple ligand specific probe amplification</i> (MLPA), sistema de PCR <i>multiplex</i> que permite detectar a la vez la información del cambio de número de copia de varias secuencias (un máximo de decenas) determinadas en una muestra al compararlas con un control sano;</li> <li>2. <i>Quantitative polymerase chain reaction</i> (qPCR), variante de la PCR utilizada para amplificar y simultáneamente cuantificar de forma absoluta el producto de la aplicación del ADN;</li> <li>3. <i>Gene Chips de Affymetrix</i>, utilizados para identificar genes con una expresión diferencial en condiciones distintas. Por ejemplo, para detectar genes que producen ciertas enfermedades mediante la comparación de los niveles de expresión entre células sanas y células que están desarrollando ciertos tipos de enfermedades.</li> <li>4. <i>DosageMiner</i>, sistema de detección de variantes del número de copias (CNV) a partir de la intensidad de las sondas de los polimorfismos de un sólo nucleótido (PSN) de las micromatrices del ADN.</li> <li>5. <i>QuantiSNP</i>, sistema que estima CNV basándose en el modelo bayesiano Hidden–Markov.</li> <li>6. <i>Detection of virtually all mutations-SSCP</i> (DOVAM-S), es una variante más sensitiva del Polimorfismo de Conformación de Cadena Simple (SSCP), técnica de rastreo de mutaciones usada en el diagnóstico molecular basada en la migración electroforética del ADN.</li> <li>7. <i>DosageMiner</i> y <i>QuantiSNP</i></li> <li>8. Otra (describir...)</li> <li>9. No especificada</li> </ol>
117.	<p><b>Estrati:</b> Consideración de la estratificación de la población, definido como confusor, debido a subpoblaciones en la muestra que difieren tanto en la prevalencia del genotipo</p>

	<p>como en el riesgo de enfermedad.</p> <p>Muchos estudios de asociación de individuos no relacionados intentan evitar este problema usando poblaciones que son homogéneas en términos de ancestros. Los auto-registros pueden ser suficientes, al menos, para las poblaciones con ancestros Europeos. Otras posibilidades se han utilizado como un buen número de técnicas que valoran diferencias potenciales en las mezclas de ancestros, y si encuentran diferencias, realizan correcciones; estas correcciones usan auto-registros de etnicidad, controles basados en la familia o técnicas estadísticas denominadas <i>control genómico</i> para valorar los patrones de marcadores no relacionados.</p> <p>Los métodos usados para el problema potencial de la estratificación poblacional en estudios primarios, incluyen: 1) uso de caso y control parental y otros diseños basados en la familia, y 2) control genómico usando marcadores genéticos no relacionados que son asumidos sin efecto en la enfermedad que se estudia. Los autores deberían describir alguna estrategia utilizada para la posible estratificación de la población en el diseño o análisis de los estudios incluidos</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. No analizada, no aplicable (para analizar poblaciones homogéneas)</li> <li>2. Sí</li> <li>3. Ninguna mención hecha del tema</li> <li>9. No especificada</li> </ol>
118.	<p><b>Interac:</b> Consideración de una posible interacción (gen-gen y/o gen-interacciones ambientales).</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Gen-gen (descrito)...</li> <li>2. Gen-ambiente (descrito)...</li> <li>3. Ambos</li> <li>4. No</li> <li>9. No especificada</li> </ol>
119.	<p><b>Enlace:</b> Exploración del desequilibrio en el enlace (Linkage Disequilibrium), mediante valoración de marcadores adyacentes del polimorfismo que se estudia.</p> <p>Para medir el desequilibrio en el enlace se puede expresar mediante un número de diferentes formas, con métricos como el <math>r^2</math> (un coeficiente de correlación llano) o <math>D'</math>. Describir las propiedades de cada cálculo no es el objetivo de este párrafo; sin embargo, en general, a mayor número de estas medidas, mayor será el grado de vinculación entre las variantes.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>0. No</li> <li>1. Sí</li> <li>9. No especificada</li> </ol>
120.	<p><b>Relac:</b> Uso de un método para evaluar la posible relación/parentesco entre los participantes.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>0. No</li> <li>1. Sí</li> <li>9. No especificada</li> </ol>
121.	<p><b>Ajuste:</b> Ajuste para confundidores potenciales. Los lectores deben considerar si los grupos de enfermedad y no enfermedad son similares respecto a otras características importantes que pueden ser determinadas genéticamente y si se asocian con el resultado de interés. Alternativamente, los investigadores pueden haber ajustado para estas características.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>0. No</li> <li>1. Sí</li> <li>9. No especificada</li> </ol>
122.	<p><b>MulCo:</b> Control de múltiples comparaciones. El método más sencillo para corregir el problema de múltiples comparaciones es el método de Bonferroni, en el que el umbral del valor <math>P</math> se divide por el número de pruebas.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>0. No</li> <li>1. Sí</li> <li>9. No especificada</li> </ol>
123.	<p><b>HWE:</b> Para un estudio de cohortes, el <b>equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE)</b> debería valorarse a toda la población de estudio, mientras que en el estudio de casos y controles, se debería calcular en los controles porque son representativos de la población general. En los estudios de casos y controles, el HWE se deberá calcular para el grupo control.</p>

El fallo observado en el HWE es una vía de detectar errores de genotipado, aunque no sea específico y puede que tampoco sensible. Generalmente, los investigadores llevan a cabo pruebas estadísticas para valorar si las frecuencias de genotipo observadas son consistente con el HWE:  $P < 0.05$  es el umbral para confirmar un desequilibrio HWE. Sin embargo, con pruebas simultáneas de un largo número de posibles asociaciones, como los estudios GWA, se espera que un 5% de los PNS rompan el HWE debido a las pruebas múltiples. En esta situación, los investigadores pueden usar unos umbrales del P valor más restrictivo.

Las desviaciones en el HWE de una población se pueden deber a las siguientes causas:

- i. Endogamia o matrimonios de parientes cercanos, debido a que el HWE depende de un apareamiento aleatorizado (respecto al gen relevante).
- ii. La deriva genética, un proceso en el que la población se aísla, con un número posible de apareamientos.
- iii. Migración.
- iv. Nuevas mutaciones; sólo mutaciones muy nuevas afectan al HWE debido a que normalmente el equilibrio se alcanza en una generación en una población suficientemente grande.
- v. Selección, ej, una anomalía de un alelo particular que conlleva a la muerte fetal. Desviaciones del HWE pueden señalar a problemas metodológicos en el estudio genético (ej, error del genotipado o estratificación de la población).

1. Lo hacen, pero no cumple
2. Sí lo hacen y cumple
9. NS/NC

## IX. Variables resultado

131.	<b>Medef:</b> Medida del efecto utilizada <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Odds ratio (OR)</li> <li>2. Otra medida del efecto</li> <li>3. Sin cálculo de la medida del efecto</li> <li>9. NS/NC</li> </ol>
132.	<b>ORc:</b> Valor de la OR cruda (anotarla)
133.	<b>ORcInf:</b> Límite inferior del Intervalo de Confianza del 95% (IC95%) de la OR cruda (anotarla)
134.	<b>ORcSup:</b> Límite superior del IC95% de la OR cruda (anotarla)
135.	<b>ORajust:</b> si facilita alguna OR ajustada <ol style="list-style-type: none"> <li>0. No</li> <li>1. Sí</li> <li>9. No especificada</li> </ol>
136.	<b>DesOR:</b> Describir la OR ajustada y los IC95% (anotarla)
137.	<b>DesAj:</b> Describir las variables de ajuste (anotarla)
138.	<b>Anot:</b> Anotaciones:



## ANEXO 2: Lista de comprobación PRISMA- preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses



### PRISMA 2009 Checklist

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
<b>TITLE</b>			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	111
<b>ABSTRACT</b>			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	En el artículo
<b>INTRODUCTION</b>			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	93-95
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	112
<b>METHODS</b>			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	99
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	99
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	99
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	99
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	99-100
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	100-101
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	101
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	101-103
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	103-104
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., $I^2$ ) for each meta-analysis.	104



## PRISMA 2009 Checklist

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	105
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	104-105
<b>RESULTS</b>			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	110
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	112
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	121
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	113
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	111-114
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	123-136
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	114-119
<b>DISCUSSION</b>			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	139-142
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	142
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	142
<b>FUNDING</b>			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	En el artículo

From: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA Group (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. PLoS Med 6(6): e1000097. doi:10.1371/journal.pmed1000097

For more information, visit: [www.prisma-statement.org](http://www.prisma-statement.org).

Page 2 of 2