

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO**



**“ASOCIACIÓN DE VARIANTES GENÉTICAS CON RESPUESTA AL
TRATAMIENTO CON ANTIPSICÓTICOS EN POBLACIÓN CHILENA CON
ESQUIZOFRENIA”**

ALEJANDRA ZAZUETA HERNÁNDEZ.

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN GENÉTICA

Director de Tesis: Prof. Dra. MARÍA LEONOR BUSTAMANTE CALDERÓN.

Co-Director de Tesis: Prof. Dr. CRISTIAN ARANEDA TOLOSA.

2019

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE POSTGRADO**

INFORME DE APROBACIÓN TESIS DE MAGISTER

**Se informa a la Comisión de Grados Académicos de la Facultad de Medicina,
que la Tesis de Magister presentada por la candidata**

ALEJANDRA ZAZUETA HERNÁNDEZ

**ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para
optar al Grado de Magister en Genética en el Examen de Defensa de Tesis
rendido el día 29 de abril del 2019.**

Directores de tesis

Prof. Dra. María Leonor Bustamante Calderón

Prof. Dr. Cristian Araneda Tolosa

COMISION INFORMANTE DE TESIS

Prof. Dr. Mauricio Moraga

Prof. Dr. Raúl Ventura-Junca

Prof. Dr. Patricio Olguín

**Prof. Dra. Lucía Cifuentes
Presidente Comisión**

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis amorosos padres Migdalia Hernández y Miguel Zazueta, quienes fueron mi fortaleza todo el tiempo.

Agradecimientos

A mi tutora académica la Dra. Patricia Iturra, por todos sus consejos y valiosa ayuda durante el desarrollo de este Magister. A mis directores de tesis la Dra. Leonor Bustamante y el Dr. Cristian Araneda, por todas sus observaciones y sugerencias en el desarrollo de esta tesis. A mi Comisión evaluadora, la Dra. Lucia Cifuentes, el Dr. Mauricio Moraga, el Dr. Patricio Olguín y al Dr. Raúl Ventura, por todas sus observaciones y sugerencias en el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Pablo Moya por la autorización del uso de sus muestras para esta tesis y por su valiosa contribución de las sondas TaqMan® para genotipar a los individuos faltantes para el desarrollo de esta tesis. Al Dr. Rodrigo Nieto y al Dr. Álvaro Cavieres por su autorización del uso de sus muestras para esta tesis.

Al Laboratorio de la Dra. María Angélica, que nos permitió realizar la parte experimental de esta tesis, a Felipe Jilberto por toda su valiosa ayuda y todo lo enseñado durante la parte experimental de esta tesis.

Al Laboratorio de la Dra. Lilian Jara, por permitirnos el uso de su equipo, Lorena y Sebastián por su valiosa ayuda durante el desarrollo de los experimentos de esta tesis.

A Mis padres amorosos padres Migdalia Hernández y Miguel Zazueta, por ser mi fortaleza, por su enorme amor y cariño y por el gran apoyo que me brindaron para concluir mis estudios de Magister. A Mis hermanos Migdalia y Miguel Zazueta y a mi cuñado Alex Galle por su gran apoyo. A mis amigos, Elizabeth Covarrubias,

Carlos Osuna, Felipe Angulo, por su gran amistad, su enorme cariño, y por todas esas video llamadas y mensajes de gran apoyo sobre todo durante esta etapa.

A Pablo Báez, por sus valiosos aportes en el desarrollo de esta tesis, consejos y enseñanzas durante esta etapa y sobre todo por su cariño.

A mis compañeros de Magister Ignacio Maureira y Francisco Mallea, por su gran amistad y apoyo durante todo el Magister. A Diana Peláez por su grandiosa amistad, cariño y diversión.

A mis amigos sustentables, Enrique, Nathy, Juan, Francisco Rudy, Roberto, por su gran amistad, su diversión, grandes momentos y por adoptar a una Genetista en su grupo de sustentables.

Financiamiento

- Proyecto ICM-MINECOM NC130011, Núcleo Milenio.
- Proyecto INCL-04, de la oficina de apoyo a la investigación Clínica del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.
- Proyecto PMI UVA1402.
- ICM-MINECOM P09 Instituto de Neurociencias Biomédicas.
- Clínica Los Tiempos.

Índice

Resumen.....	1
Abstract.....	2
1. Introducción.....	3
1.1. Definición de esquizofrenia.....	3
1.2. Presentación clínica y síntomas de la esquizofrenia.....	3
1.3. Diagnóstico y diagnóstico diferencial de la esquizofrenia.....	4
1.4. Etiopatogenia de la esquizofrenia.....	5
1.4.1. Hipótesis del neurodesarrollo.....	6
1.4.2. Hipótesis dopaminérgica.....	7
1.4.3. Hipótesis glutamatérgica.....	8
1.4.4. Hipótesis endocannabinoide.....	9
1.4.5. Sistema de oxitocina.....	11
1.5. Tratamiento de la esquizofrenia.....	12
1.5.1. Antipsicóticos.....	12
1.5.2. Respuesta al tratamiento y esquizofrenia resistente.....	14
1.5.3. Clozapina.....	15
1.5.4. Tratamiento de la esquizofrenia resistente.....	16
1.5.5. Tratamiento de la esquizofrenia resistente en Chile.....	19
2. Pregunta: ¿La respuesta al tratamiento con antipsicóticos es modulada por variantes genéticas en pacientes chilenos con esquizofrenia?.....	24
3. Hipótesis:.....	24
4. Objetivo general:.....	24
5. Objetivos específicos:.....	24
5. Materiales y métodos.....	25
5.1 Sujetos.....	25
5.2.1. Controles.....	25
5.2.2. Pacientes.....	25
5.3.1. Cálculo de potencia estadística.....	27
5.2. Evaluación clínica.....	28
5.2.1. Mini entrevista neuropsiquiátrica internacional (MINI).....	28
5.2.2. Entrevista Clínica Estructurada para los trastornos (SCID-I).....	28

5.2.3.	Escala breve de evaluación psiquiátrica (BPRS)	30
5.2.4.	Escala para síntomas positivos y negativos (PANSS)	31
5.2.5.	Escala global clínica (CGI).....	31
5.2.6.	Conversión de PANSS a BPRS	31
5.3.	Análisis genéticos.....	32
5.3.1.	Muestras de ADN genómico	32
5.3.2.	SNPs seleccionados	32
5.3.3.	Genotipificación	33
5.4.	Análisis estadístico.....	35
6.	Resultados.....	37
6.1.	Características demográficas de los individuos.....	37
6.2.	Características clínicas de los pacientes.....	38
6.3.	Estimación y comparación de frecuencias genotípicas y alélicas	40
6.4.	Asociación de las variantes con la respuesta al tratamiento.....	46
7.	Discusión	49
8.	Conclusión.....	57
9.	Anexos	58
10.	Bibliografía.....	66

Índice de figuras

Figura 1. Las cuatro vías dopaminérgicas del cerebro. (21)	8
Figura 2. Esquema de la hipótesis glutamatérgica de la esquizofrenia (20).	9
Figura 3. Ilustración esquemática de la sinapsis de cannabinoide endógeno en la DLPFC en estado saludable y en la esquizofrenia(28).	10
Figura 4. Ilustración esquemática de la sinapsis de oxitocina en estado saludable.....	11
Figura 5. Distribución del total de puntaje de BPRS de los pacientes resistentes y respondedores.	38
Figura 6. Distribución de la subescala de síntomas negativos de los pacientes resistentes y respondedores	39
Figura 7. Distribución de la subescala de los síntomas positivos de los pacientes resistentes y respondedores.....	40
Figura 8. Análisis exploratorio de la proporción de datos faltantes en las 21 variables contenidas en el dataset.	47

Índice de tablas

Tabla 1. SNPs del presente estudio.	33
Tabla 2. Volúmenes de reactivos para solución de PCR.	34
Tabla 3. Programa de temperatura para termociclador	34
Tabla 4. Características demográficas	37
Tabla 5. Puntaje de los síntomas psicóticos en los pacientes resistentes y respondedores.	40
Tabla 6. Frecuencias genotípicas de tres SNPs del gen OXT en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.	41
Tabla 7. Frecuencias genotípicas de tres SNPs del gen OXTR en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.	42
Tabla 8. Frecuencias genotípicas de cuatro SNPs del gen CNR1 en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.	42
Tabla 9. Frecuencias genotípicas de cuatro SNPs del gen DDC en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.	43
Tabla 10. Frecuencias genotípicas del SNP rs1799978 del gen DRD2 en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.	43
Tabla 11. Frecuencias alélicas de tres SNPs del gen OXT en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.	44
Tabla 12. Frecuencias alélicas de tres SNPs del gen OXTR en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.	45
Tabla 13. Frecuencias alélicas de cuatro SNPs del gen CNR1 en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.	45
Tabla 14. Frecuencias alélicas de cuatro SNPs del gen DDC en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.	46
Tabla 15. Frecuencias alélicas del SNP rs1799978 del gen DRD2 en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.	46
Tabla 16. Resultados para 4 marcadores significativamente asociados con la respuesta al tratamiento en pacientes chilenos con esquizofrenia.	48

Índice de tablas anexas

Tabla anexa 1. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen OXT rs877172.....	60
Tabla anexa 2. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen OXT rs2740210.	60
Tabla anexa 3. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen OXTR rs2228485.....	61
Tabla anexa 4. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen OXTR rs2254298.....	61
Tabla anexa 5. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen CNR1 rs806368.....	62
Tabla anexa 6. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen CNR1 rs1049353.....	62
Tabla anexa 7. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen CNR1 rs806379.....	63
Tabla anexa 8. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen CNR1 rs806380.....	63
Tabla anexa 9. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen DDC rs10499696.....	64
Tabla anexa 10. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen DDC rs11238133.....	64
Tabla anexa 11. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen DRD2 rs1799978.....	65

Resumen

Introducción: La esquizofrenia es una enfermedad psiquiátrica grave y crónica que afecta al 1% de la población. La etiología de la esquizofrenia es desconocida, donde los factores genéticos son de suma importancia ya que se presenta una heredabilidad del 80%. La respuesta al tratamiento es heterogénea y algunos genes que se han visto relacionados a la esquizofrenia, son relacionados con las vías de los sistemas glutamatérgico, dopaminérgico, endocannabinoide y oxitocina. El objetivo del estudio es establecer diferencias en variantes genéticas que lleven a un mejor entendimiento en patogenia y tratamiento. **Materiales y métodos:** Se reclutaron 196 pacientes con esquizofrenia de ambos sexos, ambulatorios u hospitalizados, diagnosticados según DSM IV, utilizando el SCID- I y 81 controles sin patologías psiquiátricas según la entrevista MINI. Los genotipos fueron obtenidos mediante PCR en tiempo real con sondas TaqMan®. Se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg y las diferencias genotípicas con prueba de χ^2 , también se realizó un modelo de regresión logística múltiple para cada SNP. **Resultados:** Se obtuvo un modelo de cuatro SNPs que resultaron predictores a la respuesta al tratamiento, los cuales sugieren que el portar de los alelos alternativos de estos podrían estar asociados a una mejor respuesta al tratamiento.

Abstract

Introduction: Schizophrenia is a serious and chronic psychiatric disease that affects 1% of the population. The etiology of schizophrenia is unknown, where genetic factors are very important since there is a heritability of 80%. The response to treatment is heterogeneity and some genes that have been related to schizophrenia are related to the glutamatergic, dopaminergic, endocannabinoid and oxytocin systems. The objective of the study is to establish differences in genetic variants that lead to a better understanding of pathogenesis and treatment. **Materials and methods:** 196 patients with schizophrenia of both sexes, ambulatory or hospitalized, diagnosed according to DSM IV, using the SCID-I and 81 controls without psychiatric disorders were recruited according to the MINI interview. Genotypes were obtained by real-time PCR with TaqMan® probes. We evaluated the Hardy-Weinberg equilibrium and the genotypic differences with the X² test; we also performed a multiple logistic regression model for each SNP. **Results:** We obtained a model of four SNPs that were predictors to the response to treatment, which suggests that the carrying of alternative alleles of these could be associated with a better response to treatment.

1. Introducción

1.1. Definición de esquizofrenia

La esquizofrenia es una enfermedad psiquiátrica crónica que afecta al 1% de la población mundial (1). Se define como un trastorno de la función cerebral que afecta los pensamientos, los sentimientos y los actos de las personas. Esta enfermedad conduce a un serio declive en la función mental, un marcado cambio de personalidad, aislamiento social, discapacidad ocupacional, deterioro cognitivo y mala salud del individuo que la padece (2).

1.2. Presentación clínica y síntomas de la esquizofrenia

La esquizofrenia es considerada como una psicopatología heterogénea cuya característica principal son los síntomas denominados positivos o psicóticos, donde el contacto con la realidad se pierde, y que se caracterizan por delirios, alucinaciones y discurso desorganizado. Así también se presentan síntomas denominados negativos como retraimiento emocional, motivación deteriorada y retraimiento social, junto con síntomas cognitivos que incluyen alteración de atención, memoria y funciones ejecutivas (3-5). Dentro de los síntomas negativos y cognitivos que se pudieran presentar, estos tienden a ser crónicos y estar asociados con efectos a largo plazo en las relaciones sociales. Cabe señalar que el primer episodio de psicosis generalmente ocurre en la adolescencia tardía o la adultez temprana (6).

1.3. Diagnóstico y diagnóstico diferencial de la esquizofrenia

El diagnóstico de la esquizofrenia (existen entrevistas estandarizadas que se describen más adelante en la sección de materiales y métodos) se hace clínicamente sobre la base de la historia y mediante un examen del estado mental por un especialista en el área y acorde con el Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (en inglés, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, abreviado DSM), (7). Es muy importante realizar un diagnóstico diferencial con aquellas afecciones que al igual que la esquizofrenia presentan psicosis, la cual se define como la pérdida de los límites del sí mismo y de la evaluación de la realidad (8). Como característica de esta sintomatología pueden existir, alucinaciones, ideas delirantes, trastornos del pensamiento, lenguaje desorganizado, comportamiento desorganizado o catatónico, entre otros. Los trastornos que presentan psicosis se clasifican en: esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo, trastorno esquizofreniforme, trastorno delirante, trastorno psicótico breve, trastorno psicótico inducido por el alcohol u otras sustancias, trastornos psicóticos causados por enfermedades médicas generales y trastorno psicótico no especificado. Para realizar el diagnóstico diferencial es importante tomar en cuenta la duración de la enfermedad, la naturaleza y el patrón de abuso de sustancias asociadas, la concurrencia de depresión o manía, y la presencia de una enfermedad psicósomática (6).

1.4.Etiopatogenia de la esquizofrenia

La etiopatogenia de la esquizofrenia es desconocida sin embargo, se ha postulado como una enfermedad multifactorial, resultado de una combinación compleja de factores genéticos, ambientales y anatómicos donde los factores genéticos han sido considerados de suma importancia ya que en estudios entre gemelos monocigotos han sido reportadas tasas de concordancia de la esquizofrenia de aproximadamente 50% (6) y además estimaciones recientes sugieren una heredabilidad de alrededor del 80% (3, 9). No obstante, la mayoría de los casos no presentan patrones de herencia mendelianos, sino más bien de tipo complejos (10).

La investigación genética ha proporcionado una gran cantidad de información sobre variantes asociadas con el riesgo de esquizofrenia (11-14); se han encontrado variantes raras del número de copias de alta penetrancia, especialmente por deleciones parciales del brazo largo del cromosoma 22 (22q11.2). Dichas variantes raras podrían ser asociadas en el 0,2-0,3% de los pacientes, 8.500 polimorfismos genéticos identificados mediante estudios de asociación de todo el genoma explican una varianza del riesgo relativo de aproximadamente 32%. No obstante, ninguna de las posibles variantes de susceptibilidad identificadas hasta ahora es específica de la enfermedad, ni puede usarse para fines de diagnóstico o clasificación de la esquizofrenia (15). Toda esta información deja en evidencia la compleja etiopatogénesis que conduciría a las diversas manifestaciones clínicas de la esquizofrenia.

Es por ello que los esfuerzos se han concentrado no solo en identificar los factores de susceptibilidad genética y el diagnóstico de la esquizofrenia, sino también en el desarrollo de tratamientos farmacológicos efectivos que conduzcan a la remisión de los pacientes. Actualmente existen cuatro hipótesis, que desde el punto de vista fisiopatológico, tratan de explicar el desarrollo y las manifestaciones clínicas de la esquizofrenia.

1.4.1. Hipótesis del neurodesarrollo.

El desarrollo del cerebro humano es un proceso prolongado que comienza aproximadamente en la tercera semana gestacional, con la diferenciación de las células progenitoras neuronales, y se extiende a lo largo de la adolescencia, al menos hasta la madurez. El desarrollo del cerebro se caracteriza por la diferenciación de las células progenitoras neurales, la formación del tubo neural y el patrón neuronal durante los períodos embrionarios y fetal tempranos; así como por la producción de neuronas, migración y diferenciación en los periodos postnatal y fetal; y de igual manera, por eventos de mielinización, regresivos y progresivos que involucran procesos neuronales y escultura de arquitecturas sinápticas y de circuitos en el periodo postnatal. Junto con cada uno de estos procesos cruciales, la morfogénesis y patrones generales del cerebro están controlados por programas espacio temporales específicos de expresión génica y de gradientes morfogénicas e influenciados por el ambiente (16).

Se ha sugerido que las perturbaciones iniciales del desarrollo en cualquiera de los procesos antes descritos, afectan los eventos posteriores y cambian la trayectoria

postnatal, culminando en una predisposición a la disfunción de los circuitos. Además, los factores como traumatismo encefálico, epilepsia, enfermedades autoinmunes e infecciones graves que pueden alterar el neurodesarrollo (6, 17, 18).

1.4.2. Hipótesis dopaminérgica.

Esta hipótesis se basa en que la aparición de los síntomas se debe a un exceso de dopamina (DA) o a una elevada sensibilidad a este neurotransmisor. Se formuló tras el descubrimiento de que los antipsicóticos efectivos eran antagonistas de los receptores dopaminérgicos, junto con la observación de que agentes liberadores de DA, como las anfetaminas y otras drogas, pueden producir síntomas psicóticos (19). En ella se propone que, durante la desregulación en la transmisión dopaminérgica se observaría por un lado, la hiperactividad de esta vía es la responsable de los delirios y las alucinaciones observados en la esquizofrenia. La vía mesolímbica de la DA esta hipotéticamente afectada. Aquí, los cuerpos celulares de DA en el área tegmental ventral envían proyecciones a la corteza prefrontal dorsolateral (CPFDL) para regular la cognición y las funciones ejecutivas, y a la corteza prefrontal ventromedial (CPFVM) para regular las emociones y el afecto. Por otro lado, una hipoactividad de esta vía resulta teóricamente en síntomas negativos, cognitivos y afectivos, vistos en la esquizofrenia. Este déficit de dopamina podría resultar de una degeneración continua, debido a la excitotoxicidad del glutamato o por una incapacidad del neurodesarrollo en el sistema glutamatérgico. La pérdida de motivación e interés (anhedonia), y falta de placer, como se observa en esta patología, resulta no solo en una vía de dopamina mesocortical que funciona mal pero también de una vía de DA mesolímbica deficiente (Figura 1)(20).

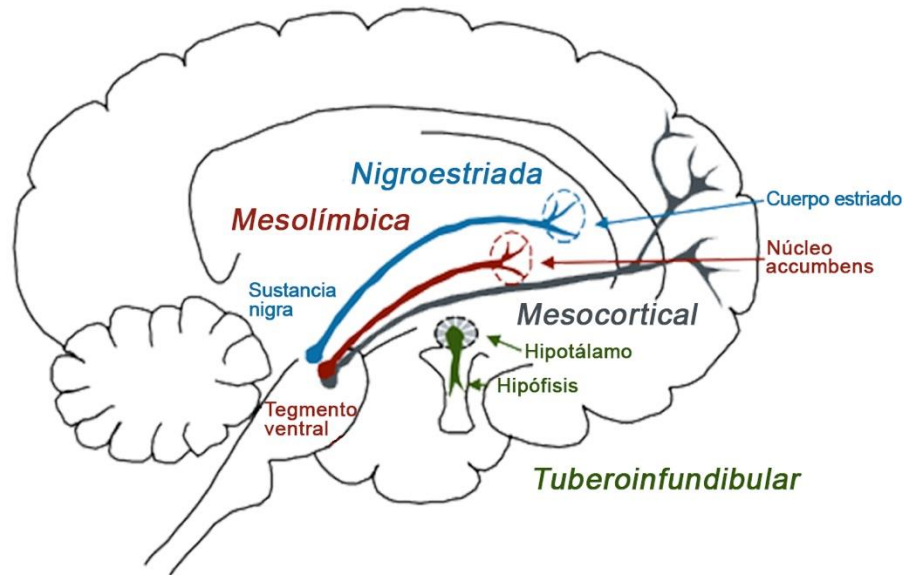


Figura 1. Las cuatro vías dopaminérgicas del cerebro. (21)

Se ilustran las cuatro vías dopaminérgicas del cerebro: Mesocortical, Mesolímbica, Nigroestriada y Tuberoinfundibular. **La vía nigroestriatal de DA:** es parte del sistema nervioso extrapiramidal, que controla la función motora y el movimiento. **La vía mesolímbica de DA:** es parte del sistema límbico, que regula las conductas, incluyendo las sensaciones placenteras, la poderosa euforia de las drogas de abuso, y los delirios y alucinaciones vistos en la psicosis. **La vía mesocortical de DA:** está implicada en la medicación de los síntomas cognitivos en CPFDL y, síntomas afectivos en PFVM de la esquizofrenia. **La vía tuberoinfundibular de DA:** proyecta desde el hipotálamo y controla la secreción de prolactina (20).

1.4.3. Hipótesis glutamatérgica.

En los últimos años, evidencia experimental ha sugerido que la neurotransmisión glutamatérgica está implicada en la esquizofrenia. Por ejemplo, la administración de antagonistas del receptor de glutamato tipo NMDA (NMDARs) como dizocilpina, fenilciclidina o ketamina, conducen a la aparición tanto de síntomas positivos como negativos y cognitivos de la esquizofrenia (22, 23). Las observaciones en modelos animales han sido replicadas en grupos de humanos clínicamente controlados o en individuos consumidores de drogas de abuso (24-26).

La hipótesis glutamatérgica y la dopaminérgica no son mutuamente excluyentes ya que la liberación de glutamato, por ejemplo, está regulada por receptores presinápticos de DA D2 en las vías corticolímbicas y corticoestriatales (Figura 2)(27).

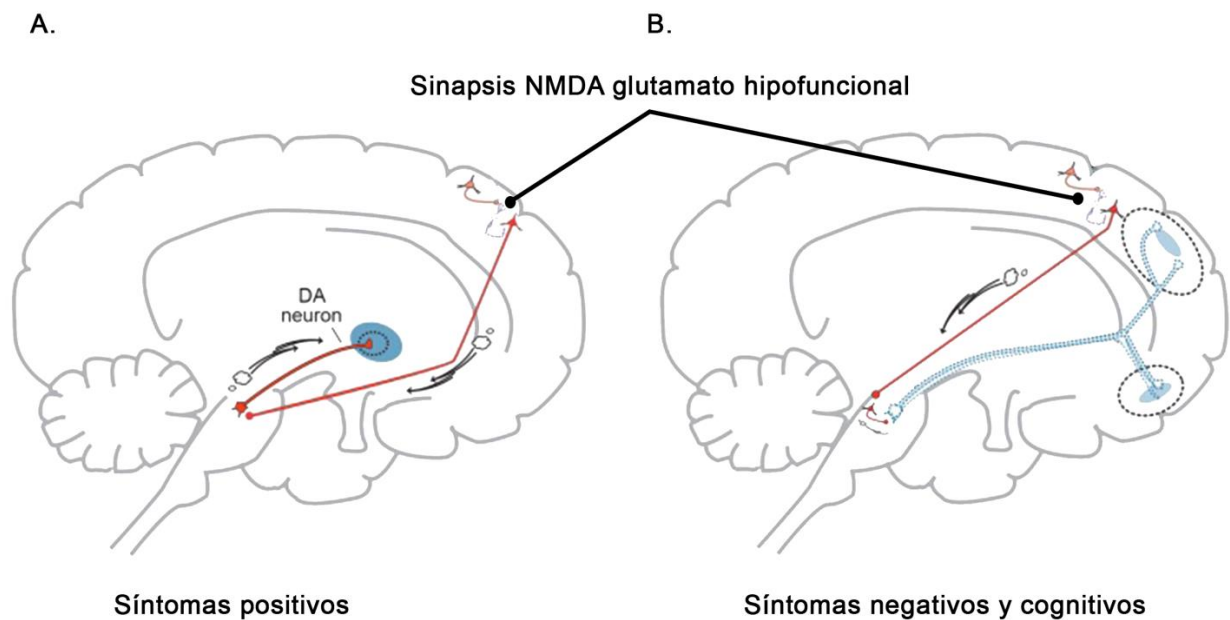


Figura 2. Esquema de la hipótesis glutamatérgica de la esquizofrenia (20).

Normalmente, las proyecciones de glutamato córtico-tallo cerebral sinaptan directamente con las neuronas de DA en el área tegmental ventral, donde excitan tónicamente la vía mesolímbica de DA y actúan como aceleradores de neuronas DA (A). La hipoactividad en las proyecciones de glutamato, similar a lo que se observa tras administraciones de fenciclidina (PCP), puede así resultar teóricamente en una activación perdida de las neuronas mesolímbicas de DA y puede ser la causa de los síntomas negativos, cognitivos y afectivos, vistos en la esquizofrenia (B). (20)

1.4.4. Hipótesis endocannabinoide.

El sistema cannabinoide endógeno está compuesto por diferentes receptores principalmente el receptor cannabinoide tipo 1 (CB1), una serie de ligandos lipofílicos endógenos y enzimas encargadas de la biosíntesis y degradación de estos endocannabinoides. Los receptores CB1 inhiben la liberación de varios

neurotransmisores y neuromoduladores, entre ellos la DA, el GABA, la serotonina, el glutamato, la noradrenalina y la acetilcolina. Los dos endocannabinoides más importantes son la anandamida (N-araquidoniletanolamida, AEA) y el 2-araquidonoil glicerol (2-AG) (Figura 3).

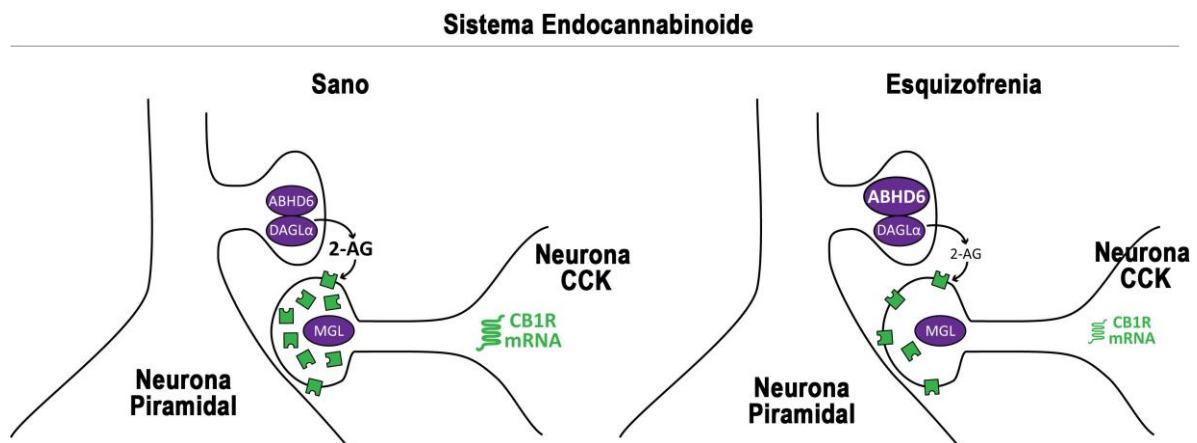


Figura 3. Ilustración esquemática de la sinapsis de cannabinoide endógeno en la DLPFC en estado saludable y en la esquizofrenia(28).

Izquierda: Una vez que se ha sintetizado y liberado 2-AG, viaja y activa el receptor CB1R, es degradado por monoglicérido lipasa (MGL) o por dominio α - β -hidrolasa 6. **Derecha:** en la esquizofrenia, se han informado niveles más altos de ARN mensajero (ARNm) para ABHD6 en el DLPFC, que pueden conducir a un metabolismo mayor de 2-AG directamente en la fuente de producción de 2-AG, que puede, a su vez, disminuir la actividad de 2-AG en CB1Rs (29).

La hipótesis de que el consumo de cannabinoides exógenos puede contribuir a la fisiopatología de la psicosis se ve apoyada por observaciones en individuos sanos, donde la administración intravenosa de delta-9tetrahidrocannabinol (THC) en voluntarios puede producir trastornos similares a los síntomas positivos y negativos de la esquizofrenia. Es importante el hecho de que la densidad de CB1 se encuentra aumentada en aquellas regiones del cerebro que han sido implicadas en la esquizofrenia, como son la corteza prefrontal, los ganglios basales, el hipocampo y la corteza cingulada anterior (CCA). En los estudios postmortem, se observa un

aumento de la activación de CB1 en la CPFDL y la corteza cingulada posterior (CCP) en los cerebros de esquizofrénicos (figura 3) (30).

1.4.5. Sistema de oxitocina

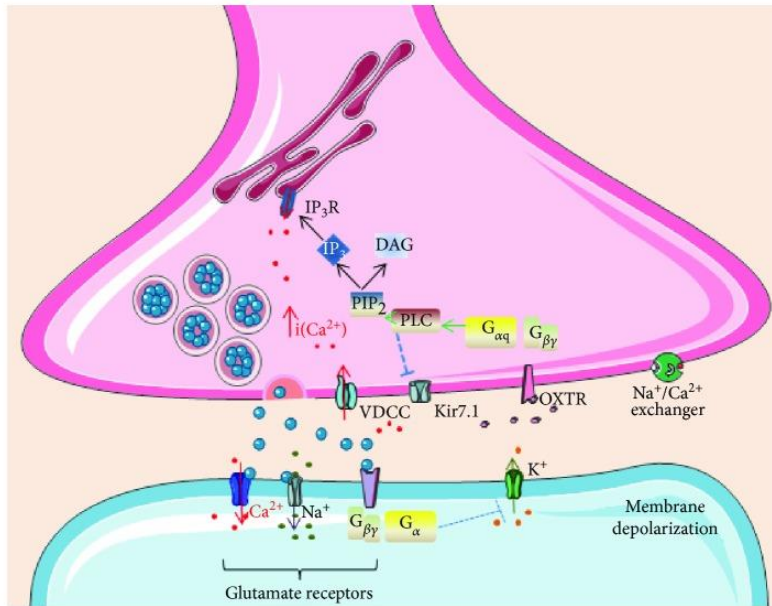


Figura 4. Ilustración esquemática de la sinapsis de oxitocina en estado saludable.

Los receptores de oxitocina acoplados a proteínas presinápticas G modulan la polaridad de la membrana (31).

La oxitocina (OXT) es un neuropéptido sintetizado en las neuronas magnocelulares del núcleo paraventricular del hipotálamo, y almacenado en vesículas secretoras al interior de las proyecciones axonales ubicadas en el lóbulo posterior de la hipófisis (32). La OXT y sus receptores se encuentran en áreas del cerebro implicadas en los síntomas de la esquizofrenia como en el núcleo accumbens y el hipocampo (33). Debido a los síntomas negativos asociados con la esquizofrenia y los efectos de la OXT sobre los comportamientos social, los investigadores plantean la hipótesis que

su desregulación puede contribuir a la etiología y la gravedad de los síntomas de la patología (34).

1.5. Tratamiento de la esquizofrenia

1.5.1. Antipsicóticos

Actualmente, no existen tratamientos curativos para la esquizofrenia (35). El tratamiento se lleva a cabo con medicamentos antipsicóticos que se pueden clasificar en dos categorías: antipsicóticos típicos (llamados neurolépticos, por ejemplo, clorpromazina, haloperidol, tioridazina) o de primera generación y antipsicóticos atípicos o de segunda generación (clozapina, risperidona, olanzapina, quetiapina, amisulpride y ziprasidona). (36). Las dos clases son tratamientos efectivos para la esquizofrenia, pero no alivian todos los síntomas y a menudo resultan en efectos secundarios graves, lo que reduce la eficacia debido a una mala adherencia (17, 37).

Los antipsicóticos de primera generación tratan los síntomas de la esquizofrenia bloqueando los receptores D2. Un excesivo bloqueo de los receptores D2, o un bloqueo de los receptores DA en áreas hipo-activas puede llevar a muchos efectos secundarios, incluyendo la “neuroleptia”, una forma extrema de lentitud o ausencia de movimientos motores, así como a un empeoramiento de los síntomas negativos, cognitivos y afectivos. Los antipsicóticos atípicos se diferencian de los antipsicóticos típicos por sus propiedades clínicas, que se basan en sus características farmacológicas: 1) La tasa de disociación de los receptores D2 diferencia la “atipicidad” de un antipsicóticos. Una unión fuerte y de larga duración es

característica de los antipsicóticos típicos, mientras que una disociación rápida es característica de los antipsicóticos atípicos. 2) Los antipsicóticos atípicos pueden ser además agonistas parciales D2. Estos agentes se unen de manera que no es ni demasiado antagonizante ni demasiado estimulante, lo que permite una cantidad “adecuada” de neurotransmisión en los receptores D2. 4) El antagonismo completo o parcial en el receptor 5HT1A puede ser también una característica de algunos antipsicóticos atípicos. La estimulación en el receptor 5HT1A puede incrementar la liberación de DA, lo que mejora los síntomas afectivos, cognitivos y negativos, a la vez que disminuye el riesgo de efectos secundarios extrapiramidales y de elevación de la prolactina.

Estos son actualmente el tratamiento de primera línea de opciones, son preferibles a los antipsicóticos típicos debido a la disminución de la incidencia de efectos secundarios extrapiramidales (como trastorno del movimiento como parkinsonismo). Sin embargo, están asociados con efectos secundarios metabólicos graves, incluida la hiperfagia, aumento de peso y dislipidemia, estos factores contribuyen a un mayor riesgo de diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular, que han sido asociados con la variabilidad genética a su aparición (38, 39).

1.5.2. Respuesta al tratamiento y esquizofrenia resistente

La esquizofrenia es una enfermedad crónica, donde hasta el 80-90% de los pacientes presentaran algún tipo de disfunción social o laboral (40). Es por ello que para alcanzar la recuperación se busca un nivel adecuado del funcionamiento social, incluyendo el aspecto laboral, y satisfacción personal (41).

La cronicidad ha sido frecuentemente usada para definir resistencia, se han usado el número de hospitalizaciones o aún las hospitalizaciones crónicas para definirlo (42). Una de las primeras definiciones de resistencia a tratamiento fue propuesta el año 1988, cuando John Kane et al, demostraron la eficacia de la clozapina en casos de esquizofrenia resistente al tratamiento, misma que definieron como la ausencia de respuesta satisfactoria (según los puntajes en escalas como BPRS y CGI) luego de tres ensayos terapéuticos, entendidos éstos como tres antipsicóticos a dosis plenas, y tomando como referencia 400-600 mg de clorpromazina (43).

En general distintas definiciones operativas posteriores se han realizado sobre tres variables principales: indicadores de mejoría por escalas clínicas, número de fármacos ensayados y sus dosis, y el tiempo de tratamiento (44).

Diferentes guías tales como las propuestas por: la asociación americana de psiquiatría (45), la asociación canadiense (46) y la federación mundial de sociedades de psiquiatría biológica(47), hacen referencia a una pobre respuesta sintomática luego de al menos dos ensayos con antipsicóticos (uno de ellos un atípico), con una duración al menos 6 semanas y dosis en rango adecuadas, una

vez descartadas otras causas tales como consumo de drogas, mala adherencia al tratamiento y variables psicosociales.

Sin embargo, a pesar de los diferentes criterios en la definición de ERT (Esquizofrenia resistente a tratamiento), la mayoría de las guías clínicas concuerdan en el uso de Clozapina como fármaco de primera línea (44).

1.5.3. Clozapina

La clozapina presenta efectos bloqueando la actividad serotoninérgica (5₂), adrenérgica (α_1), e histaminérgica (H₁), es además un potente anti-muscarínico. En cambio su unión a receptores dopaminérgicos es débil. A diferencia de otros antipsicóticos, tendría menos efectos extrapiramidales (43). Sin embargo, desde su implementación, se han descrito alteraciones hematológicas importantes tales como agranulocitosis con un potencial letal (48). Por este motivo fue retirado en varios países y se perdió financiamiento para la realización de estudios clínicos. No obstante, en algunos países, incluyendo Estados Unidos, se permitió su uso solamente en caso de pacientes cuidadosamente seleccionados, por ejemplo, ERT o pacientes con síntomas extra piramidales importantes, y acompañado de un protocolo de vigilancia de efectos hematológico, con lo cual se disminuyó la tasa de agranulocitosis (49, 50).

Existe un porcentaje de pacientes que no responde a clozapina (30 - 60%), los cuales son considerados pacientes refractarios. Si esta no funciona, se puede hacer una de las siguientes estrategias: I) añadir un fármaco diferente, no antipsicótico, como coadyuvante. Los agentes más usados para esto son: litio,

anticonvulsiantes (ácido valproico, carbamezapina, lamotrigina y topiramato), antidepresivos, benzodiacepinas, y terapia electroconvulsiva (TEC); II) añadir otro antipsicótico, comúnmente un atípico; III) contemplar terapias no farmacológicas, dentro de las que se encuentran: psicoterapia (terapia cognitivo conductual y terapia de familia), y TEC. Lo que orientará la elección en este paso es, principalmente, el tipo predominante de síntomas (positivos, negativos, cognitivos) (44).

1.5.4. Tratamiento de la esquizofrenia resistente

Está ampliamente establecido que la respuesta al tratamiento en la esquizofrenia es heterogénea; mientras que un buen número de los pacientes alcanzan la remisión, una proporción considerable se mantiene activa y persistentemente psicótica a pesar del tratamiento farmacológico. Se cree que más de un tercio de los pacientes diagnosticados con esquizofrenia responde parcialmente o es resistente al tratamiento (51).

La ERT es una afección común que afecta al menos a un tercio de los pacientes, con una respuesta inadecuada a dos ensayos de antipsicóticos y hospitalizaciones recurrentes. Algunas explicaciones que se han descrito en la bibliografía para la respuesta al tratamiento con antipsicóticos son: el avance de la enfermedad, el tiempo de tratamiento, consumo de alcohol y drogas así como variantes genéticas que han sido relacionadas con la esquizofrenia y a la respuesta parcial o resistente al tratamiento. La clozapina ha sido considerada como un medicamento ampliamente disponible para la esquizofrenia resistente al tratamiento (52, 53).

Además, se ha descrito que las diferencias en la susceptibilidad a los tratamientos farmacológicos de diversas enfermedades, incluyendo las psiquiátricas, son resultado de variantes genéticas del ADN, como los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), los cuales desempeñan un papel biológico importante en el desarrollo de enfermedades debido a que pueden tener un efecto sobre la actividad o función de las proteínas, así como también la expresión de los genes que las codifican (54).

En este sentido, se han identificado diversos genes relacionados con la fisiopatología de la esquizofrenia, algunos de ellos involucrados en las vías del sistema glutamatérgico, sistema dopaminérgico y el sistema endocannabinoide. Las variantes presentes en estos genes podrían estar asociadas no solo con la susceptibilidad a la enfermedad, sino también con la respuesta al tratamiento.

Anttila *et al.*, por ejemplo, estudiaron en 94 pacientes esquizofrénicos, el polimorfismo *5-HTA T102C* del receptor de serotonina, y encontraron que el genotipo C/C era más común en mujeres resistentes al tratamiento con antipsicóticos típicos, en comparación con las que respondieron y con los controles. Mientras que para el polimorfismo *TPH1 A779C* del gen *triptófano hidrolasa 1*, mostró una correlación inversa con una buena respuesta al tratamiento en comparación en comparación con individuos no respondedores [OR = 0.59 (95% CI 0.36-0.98), $p = 0.030$] y controles [OR = 0.44 (95% CI 0.23-0.86), $p = 0.016$] (55).

En cuanto a la vía dopaminérgica, se ha reportado que diversos SNPs funcionales que cambian la expresión del receptor de dopamina o la disposición de la dopamina

podrían influir en la respuesta al tratamiento antipsicótico. Por ejemplo, el polimorfismo rs2237457 del gen de la *dopa-descarboxilasa* (*DDC* o *GRB10*), se asocia con esquizofrenia resistente. La frecuencia del genotipo T/T en los pacientes resistentes es significativamente mayor a la de los respondedores (26.2% frente a 7.3%) y cada alelo T adicional aumenta las probabilidades de resistencia en 1.74 veces. Sin embargo, el 73.8% de los pacientes resistentes tienen genotipo T/C o C/C, lo que sugiere que la predictividad de la resistencia a través de rs2237457 es limitada (PPV=70.91% y NPV=64.97% en modo recesivo) (56). Además, aproximadamente un tercio de los pacientes muestran una limitada respuesta al tratamiento antipsicótico, y hallazgos recientes sugieren que este subgrupo puede no exhibir disfunción dopaminérgica (6, 57, 58).

En otro estudio de Escamilla *et al.*, también analizaron variantes de la vía dopaminérgica y su respuesta al tratamiento en población mexicana. Se observó que rs4682 del gen *COMT* y rs6280 del gen *DRD3* se asociaron con la respuesta al tratamiento ($P < 0.05$). El polimorfismo rs1799978 del gen *DRD2* se relacionó con la resistencia al tratamiento ($P < 0,001$). Además los polimorfismos rs4682 del gen *COMT* y rs6280 del gen *DRD3* mostraron un efecto predictivo asociado al fenotipo de resistencia al tratamiento (59).

La hipótesis glutamatérgica se ha visto reforzada por el descubrimiento de varios genes de susceptibilidad relacionados con las vías glutamatérgicas (*G72*, *NRG1*, *GRIA4*, *GRM3*, *GRM8*, *GRIN2D*, o *GRIN2A*) (11). 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.

Un estudio de Taylor *et al.*, analizó variantes genéticas en el sistema de glutamato y su respuesta al tratamiento con clozapina. En él se observó que los portadores del alelo C en el polimorfismo rs16831558 del gen *SLC6A9* presentaron una reducción o (mejoría) con dosis dependiente de dicho alelo después de 6 meses de terapia con clozapina. De igual manera, los homocigotos C/C del mismo polimorfismo experimentaron una mejoría con el tratamiento de clozapina (60).

En la vía de endocannabinoides, el gen *CNR1* que codifica para el receptor CB1, localizado en la región cromosómica 6q14-15 (61), ha sido considerado como un locus de susceptibilidad para la esquizofrenia ya que existe evidencia de que algunos antipsicóticos interactúan con estos receptores. Así mismo, las variantes en este gen podrían estar asociadas con la respuesta al tratamiento en esquizofrenia (62). El alelo G del polimorfismo rs1049353 (-1359G/A) del gen *CNR1*, se ha asociado con resistencia a los antipsicóticos atípicos con respecto a los respondedores (63).

1.5.5. Tratamiento de la esquizofrenia resistente en Chile

En Chile se considera que una esquizofrenia es refractaria cuando no respondió adecuadamente al tratamiento después del uso secuencial en dosis adecuadas y por un tiempo adecuado de por lo menos dos antipsicóticos, uno de los cuales debe ser atípico. Antes de declarar que una persona sufre de una esquizofrenia resistente se debe descartar que la causa de la mala respuesta clínica sea una mala

adherencia a fármacos u otra razón sobre la que sea posible intervenir específicamente, por ejemplo, la comorbilidad con abuso de alcohol o sustancias y otros trastornos psiquiátricos. También se debe considerar que hay fármacos que administrados concomitantemente a los antipsicóticos alteran la biodisponibilidad de estos últimos, al igual que lo hace el consumo de tabaco (41).

En todos los pacientes resistentes al tratamiento con antipsicóticos se justifica el empleo de clozapina en dosis de 25 mg iniciales, los que se aumentan de a 25 mg diarios hasta alcanzar 100 mg/día en la primera semana. A partir de ahí se puede aumentar de a 100 mg semanales hasta llegar a las dosis de 300 a 400 mg/día, que es la dosis terapéutica promedio. Si al cabo de cuatro semanas con estas dosis no hay respuesta suficiente, se puede continuar subiendo las dosis hasta llegar a 900 mg/día (64).

En Chile se desconoce la cifra exacta de resistencia a antipsicóticos, sin embargo a nivel mundial se ha estimado en aproximadamente un tercio de los pacientes. El uso de clozapina, especialmente en dosis tan altas, tiene serios efectos secundarios metabólicos, por lo que consideramos que es trascendental llevar a cabo un estudio para identificar variantes genéticas que se asocian con la respuesta al tratamiento con antipsicóticos en pacientes con esquizofrenia.

Es por lo que dentro de la propuesta de este trabajo, se seleccionaron y analizaron 15 SNPs en 5 genes candidatos (*OXT*, *OXTR*, *CNR1*, *DDC*, *DRD2*) posiblemente relacionados con la respuesta al tratamiento de la esquizofrenia y que podrían guiar

la implementación de esquemas de tratamiento farmacológicos efectivos que conduzcan a la remisión de los pacientes.

El gen *DRD2* que codifica al receptor dopaminérgico D2, se ubica en el cromosoma 11q22 y consta de ocho exones. Se ha estudiado en diferentes poblaciones en estudios de asociación con respuesta a antipsicóticos, destacándose rs1799732, rs1800497, rs1799978, rs1801028 y rs1079597, es por eso que ha sido considerado un gen candidato para este estudio (65).

El *DRD2* rs1799978 (A-241G) se encuentra en la región promotora y está implicado en la sustitución de guanina por adenina en la posición -241. Aunque la consecuencia funcional de la variante es desconocida, la ubicación sugiere que puede afectar la expresión del gen *DRD2* (66).

También existe evidencia en la alteración del aumento de la síntesis de DA, está asociado a las funciones enzimáticas en esquizofrenia (67, 68). Por el proceso que ocurre en las neuronas dopaminérgicas, la tirosina es transportada dentro de la neurona e hidroxilado a L-DOPA por medio de la tirosina hidroxilada (TH); este es el paso limitante en la síntesis de DA. Luego, la L-DOPA se transforma en DA al ser descarboxilada por la dopa descarboxilasa (DDC) (69).

A pesar de que DDC no cataliza el paso limitante en la biosíntesis de DA, se ha sugerido que dicha enzima podría estar influyendo en la tasa de síntesis de DA. Dentro de este contexto, la administración de antagonistas de los receptores D2 aumenta la actividad de la DDC (70, 71), mientras que la administración de apomorfina, un agonista D2, reduce el influjo de L-[11C] DOPA. Esto coincide con

el hecho de que la administración aguda de antipsicóticos aumenta la descarga neuronal de DA, y su administración crónica disminuye el número de neuronas dopaminérgicas espontáneamente activas (72). Estos datos son consistentes con estudios de la biosíntesis de DA mediante tomografía de emisión de positrones (PET), y se sugiere que este tipo de estudios proporcionan una medida de la actividad de la DDC en las terminales sinápticas dopaminérgicas, ya que la actividad de la enzima se mueve en la misma dirección que la descarga neuronal de DA en respuesta a las intervenciones farmacológicas(68).

El gen *DDC* está ubicado en el cromosoma 7p12.1 y consta de 15 exones. Las variantes intrónicas rs11238133, rs6951648, rs10499696 y rs921451 del gen *DDC* han sido estudiadas en relación a la esquizofrenia, es por esto que en este trabajo han sido considerados (73).

El sistema endocannabinoide se ha surgido como un posible vínculo entre el cannabis y la psicosis. Esta interacción puede considerar los efectos de los compuestos de cannabinoides exógenos y endógenos por igual en el cerebro. Está bien establecido que las propiedades psicógenas del cannabis esta principalmente mediada por la estimulación delta-9tetrahidrocannabinol (THC) de los receptores CB1. La activación del receptor CB1 también puede modular otras vías, como el glutamato, la dopamina y ácido gamma-aminobutírico (GABA) (74, 75).

El gen *CNR1*, que codifica al receptor CB1, se localiza en el cromosoma 6q14-15 y se expresa ampliamente en el sistema nervioso central. Los polimorfismos en este gen se han asociado con esquizofrenia (76), abuso de sustancias (77), así como a

la respuesta al tratamiento (63) y efectos adversos (78); sin embargo otros estudios han informado hallazgos negativos (79, 80) y estas asociaciones siguen sin ser concluyentes. Teniendo en cuenta la participación del sistema endocannabinoide en la psicosis se ha propuesto como un candidato que puede contribuir a la etiología y respuesta al tratamiento de la esquizofrenia.

La OXT se ha propuesto como un neurotransmisor que estaría alterado en la esquizofrenia, esta hipótesis ha sido avalada por estudios de medición de los niveles basales de OXT en pacientes con esquizofrenia, en donde menores niveles de OXT se asociarían con menos síntomas positivos y negativos (81). Además, estudios han demostrado que la administración de OXT en pacientes con esquizofrenia, disminuiría los síntomas positivos y negativos. Así como también se han reportado variantes tanto en el gen de la *OXT* como en su receptor *OXTR* relacionados tanto a la esquizofrenia como a la respuesta al tratamiento, como por ejemplo *OXT*: rs4813625, rs4813626 y rs3761248 y *OXTR*: rs53576, rs237885. Algunas variantes del gen *OXT* relacionadas a los síntomas positivos en la esquizofrenia son: rs11706648, rs4686301, rs237899. Mientras que los síntomas negativos se han asociado con *OXT* rs2740204 (82). Es por ello que se han considerado variantes genéticas de los genes *OXT* y *OXTR* debido a su asociación en la severidad de la esquizofrenia y la respuesta al tratamiento con antipsicóticos.

2. Pregunta: ¿La respuesta al tratamiento con antipsicóticos es modulada por variantes genéticas en pacientes chilenos con esquizofrenia?

3. Hipótesis:

La presencia de variantes genéticas involucradas en el desarrollo de la esquizofrenia se asocia con respuestas diversas al tratamiento con antipsicóticos.

4. Objetivo general:

Identificar la asociación de variantes genéticas involucradas en el desarrollo de esquizofrenia con respuestas al tratamiento de antipsicóticos en pacientes chilenos.

5. Objetivos específicos:

1. Establecer el genotipo de los pacientes con esquizofrenia respondedora y resistente al tratamiento con antipsicóticos.
2. Determinar la frecuencia alélica y genotípicas de las variantes genéticas en pacientes con esquizofrenia respondedora y resistente al tratamiento con antipsicóticos.
3. Analizar las diferencias de las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes genéticas entre los pacientes con esquizofrenia respondedora y resistente al tratamiento con antipsicóticos.
4. Identificar genotipos capaces de predecir la respuesta al tratamiento con antipsicóticos en pacientes con esquizofrenia.

5. Materiales y métodos.

5.1 Sujetos

5.2.1. Controles

El grupo control estaba compuesto por 81 individuos sin patología psiquiátrica (según entrevista MINI, vea la sección 5.2.1. para mayor detalle) invitados a participar entre los consultantes y funcionarios de los Departamentos de Cirugía y Odontología del Hospital clínico de la Universidad de Chile, así como estudiantes y funcionarios de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

5.2.2. Pacientes

Este grupo estaba compuesto por un total de 196 individuos; 61 pacientes en tratamiento con antipsicóticos, reclutados en el contexto de los protocolos "Relación entre el factor neurotrófico derivado del cerebro y el funcionamiento cognitivo de pacientes con esquizofrenia" y "Bases farmacogenómicas de la mejoría cognitiva en pacientes con esquizofrenia en tratamiento antipsicótico". Ambos proyectos fueron dirigidos por el Dr. Rodrigo Nieto Rojas, desarrollados en la Clínica Psiquiátrica Universitaria y en el Programa de Genética Humana del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. La muestra incluye principalmente pacientes de la Clínica Psiquiátrica Universitaria (Servicio de Psiquiatría del Hospital Clínico de la Universidad de Chile) y del Hospital Psiquiátrico Dr. José Horwitz Barak, Policlínico del Hospital del Salvador, entre otros centros de atención psiquiátrica.

Además, 135 pacientes en tratamiento con Clozapina, provenientes del Hospital del Salvador, Playa Ancha, reclutados bajo el protocolo “Identificación de biomarcadores asociados a síntomas psicóticos refractarios en personas enfermas de esquizofrenia”, siendo el investigador principal el Dr. Álvaro Cavieres Fernández, y que fue realizado en la Universidad de Valparaíso en colaboración con el Dr. Pablo Moya V. del laboratorio de Neurogenética.

La muestra estaba compuesta por individuos de ambos sexos, ambulatorios u hospitalizados que fueron evaluados por un médico psiquiatra encargado de realizar el diagnóstico de esquizofrenia según DSM IV, utilizando el SCID- I (vea la sección 5.2.2. para mayor detalle) (83). Además, los pacientes fueron evaluados con la escala para síntomas positivos y negativos (PANSS) (84), escala breve de evaluación psiquiátrica (BPRS) (85) y con la escala CGI (86) (vea las secciones 5.2.3. a 5.2.5. para mayor detalle).

Todos los sujetos participantes de este estudio firmaron un consentimiento informado escrito, de acuerdo a lo estipulado y aprobado por el Comité de Ética de la Investigación Científica de la Clínica Psiquiátrica de la Universidad de Chile, el Comité de Ética de Investigación del Hospital Psiquiátrico Dr. José Horwitz Barak, el Comité de Ética del Servicio de Salud Metropolitano Norte y el Comité de Ética del Servicio de Salud Valparaíso-San Antonio (documentos adjuntos en la sección de anexos) y una aprobación por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile bajo este proyecto.

❖ **Criterios de inclusión para esquizofrenia respondedora al tratamiento.**

- Pacientes con diagnóstico de esquizofrenia de acuerdo al DSM-IV-TR.
- Indicación de tratamiento con al menos un antipsicótico atípico.
- Menos de doce años de tiempo de evolución de la enfermedad.

❖ **Criterios de inclusión para Esquizofrenia resistente al tratamiento.**

- En tratamiento por lo menos 6 meses con clozapina con dosis ≥ 300 mgrs. al día.

❖ **Criterios de exclusión para ambos grupos:**

- Comorbilidades psiquiátricas: Trastorno del ánimo, discapacidad intelectual, trastornos por consumo de drogas, trastornos ansiosos, trastornos disociativos, somatomorfos, trastornos alimentarios y trastornos de la personalidad.
- Comorbilidad médica y/o neurológica de importancia.

5.3.1. Cálculo de potencia estadística

Considerando que la prevalencia de la esquizofrenia en Chile es del 1% y con el tamaño de muestra de este estudio (61 casos de esquizofrenia respondedores y 135 casos resistente al tratamiento con antipsicóticos), suponiendo una frecuencia alélica (MAF) del 0.2 en la población se podrían identificar variantes dominantes que otorguen un riesgo relativo intermedio ($RR=1.8$) con una potencia estadística del 80% y un nivel de significación $\alpha=0.05$ (87).

5.2. Evaluación clínica

5.2.1. Mini entrevista neuropsiquiátrica internacional (MINI)

La MINI (Mini Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional) es una entrevista breve y altamente estructurada en formato y algoritmos, es modular por categorías diagnósticas de los principales trastornos psiquiátricos de la CIE-10 y DSM-IV. Está disponible en 33 idiomas y tiene una duración de entre 15 a 20 minutos, es fiable (3 estudios frente a CIDI y SCID) y fácil de usar por médicos no psiquiatras tras un breve curso de formación (88).

5.2.2. Entrevista Clínica Estructurada para los trastornos (SCID-I)

Es una entrevista aceptada y ampliamente utilizada para el diagnóstico de los trastornos DSM-IV Axis I (Axis I describe presencia de diagnósticos psiquiátricos clínicos, como esquizofrenia, depresión, etc.). Una entrevista SCID-I con un paciente psiquiátrico suele durar entre una y dos horas, dependiendo de la complejidad de la historia psiquiátrica del sujeto y su capacidad para describir claramente episodios de síntomas actuales y pasados, en comparación a la evaluación con pacientes no psiquiátricos que suele durar de media a una hora.

Criterios para el diagnóstico de Esquizofrenia:

a) Síntomas característicos: Dos (o más) de los siguientes, cada uno de ellos presente durante una parte significativa de un período de 1 mes (o menos si ha sido tratado con éxito):

1. Ideas delirantes

2. Alucinaciones
3. Lenguaje desorganizado
4. Comportamiento catatónico
5. Síntomas negativos, por ejemplo, aplanamiento afectivo, alogia o abulia.

b) Disfunción social/laboral: durante una parte significativa del tiempo desde el inicio de la alteración, una o más áreas importantes de actividad, como son el trabajo, las relaciones interpersonales o el cuidado de uno mismo, están claramente por debajo del nivel previo al inicio del trastorno.

c) Duración: persisten signos continuos de la alteración durante al menos 6 meses. Este periodo de 6 meses debe incluir al menos 1 mes de síntomas que cumplan al Criterio A (o menos si se ha tratado con éxito) y puede incluir los periodos de síntomas prodrómicos y residuales. Durante estos periodos prodrómicos o residuales, los signos de la alteración pueden manifestarse solo por síntomas negativos o por dos o más síntomas de la lista del Criterio A, presentes de forma atenuada.

d) Exclusión de los trastornos esquizoafectivos y del estado de ánimo: el trastorno esquizoafectivo y el trastorno del estado de ánimo con síntomas psicóticos se han descartado debido a: 1) no ha habido ningún episodio depresivo mayor, maniaco o mixto concurrente con los síntomas de la fase activa; o 2) si los episodios de alteraciones anímica han aparecido durante los síntomas de la fase activa, su duración total ha sido breve en relación con la duración de los periodos activos y residual.

f) Relación con un trastorno generalizado del desarrollo: si hay historia de trastorno autista o de otro trastorno generalizado del desarrollo, el diagnóstico adicional de esquizofrenia solo se realizará si las ideas delirantes o las alucinaciones también se mantienen durante al menos 1 mes (o menos si se han tratado con éxito) (89).

5.2.3. Escala breve de evaluación psiquiátrica (BPRS)

Es una herramienta clínica diseñada para medir el cambio en la gravedad de la psicopatología general. Se evalúa sobre un puntaje total continuo que frecuentemente se usa para medir la efectividad de las intervenciones terapéuticas en pacientes con trastornos psicóticos moderados y graves. La escala incluye 18 ítems relacionados con preocupaciones somáticas, ansiedad psíquica, aislamiento emocional, desorganización conceptual, sentimientos de culpa, tensión, manierismos y posturas, grandiosidad, ánimo depresivo, hostilidad, suspicacia, alucinaciones, lentitud psicomotora, falta de colaboración, contenido extraño del pensamiento, embotamiento afectivo, excitación y desorientación.

Cada uno de los ítems se evalúa en una escala correspondiente a los siguientes niveles: no está presente (1), muy poco (2), poco (3), moderado (4), moderadamente grave (5), grave (6), ostensiblemente grave (7) y no se puede evaluar (9). El puntaje total se obtiene sumando los ítems individuales, donde el puntaje mínimo corresponde a un total de 18 puntos y el puntaje total máximo corresponde a un total de 126 puntos. Existiendo dos subescalas para medir los síntomas positivos que corresponden a los ítems 4,11,12 y 15, donde el puntaje mínimo es 4 y el máximo

es 28, y los síntomas negativos con los ítems 3, 13, 16 y 18, donde el puntaje mínimo es 4 y el máximo es 28 (85).

5.2.4. Escala para síntomas positivos y negativos (PANSS)

Es una entrevista semiestructurada de 30-40 minutos de duración que se desarrolló a partir de los ítems del BPRS con el fin para proporcionar un instrumento bien definido, específicamente para evaluar los síntomas positivos y negativos de la esquizofrenia así como también psicopatología desde el punto de vista dimensional (gravedad de la enfermedad) y categorial (esquizofrenia positiva, negativa y mixta), la cual consta de 30 ítems, con fuertes propiedades psicométricas en términos de confiabilidad, validez y sensibilidad demostrados en una serie de estudios posteriores (85, 90).

5.2.5. Escala global clínica (CGI)

La escala CGI, proporciona una medida de resumen determinado por el médico que tiene que tener en cuenta toda la información disponible, incluyendo un conocimiento de la historia del paciente, circunstancias psicosociales, síntomas, comportamiento, y el impacto de los síntomas sobre la capacidad del funcionamiento del paciente (91).

5.2.6. Conversión de PANSS a BPRS

Las Escalas PANSS y BPRS son las más utilizadas para calificar los síntomas de la esquizofrenia. Dado que un subgrupo de los pacientes fueron evaluados únicamente con Escala PANSS, se realizó una conversión del total del puntaje del

PANSS a BPRS empleando el método descrito por *Leucht et al.* (92), para poder comparar los puntajes de los síntomas entre los pacientes. Los síntomas positivos y negativos se obtuvieron sumando los ítems correspondientes, síntomas positivos (4, 11, 12, 15) con sus equivalentes en la prueba del PANSS, y los síntomas negativos (3, 13, 16, 18) con sus equivalentes en la prueba del PANSS.

5.3. Análisis genéticos

En esta tesis se utilizaron muestras de ADN que habían sido previamente extraídas desde sangre periférica, siguiendo los protocolos que se detallan a continuación.

5.3.1. Muestras de ADN genómico

Se extrajo una muestra de sangre de 10cc a los sujetos participantes. La muestra se recolectó en tubos EDTA, y se transportó en las condiciones óptimas (4°C). El ADN genómico se extrajo mediante un kit comercial *Blood DNA extraction* (Qiagen, EEUU) y *NucleoSpin®Blood L* (Macherey-Nagel) siguiendo el protocolo del fabricante. La cuantificación de la concentración de DNA se realizó con espectrofotómetro (NanoDrop). Se realizó la evaluación de integridad del DNA genómico extraído mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.2%. Las muestras de ADN fueron almacenadas a -80 °C hasta su utilización.

5.3.2. SNPs seleccionados

La selección de este panel de variantes genéticas se realizó mediante una revisión bibliográfica de genes candidatos que estuvieran relacionados al desarrollo de esquizofrenia o a la respuesta al tratamiento con antipsicóticos, dicho panel se

realizó en un proyecto dirigido por el Dr. Pablo Moya del laboratorio de Neurogenética de la Universidad de Valparaíso (tabla1).

Tabla 1. SNPs del presente estudio.

GEN	SNP	Nomenclatura	Ubicación
OXT	rs877172	3069244T>G	Intron
	rs2740210	3072609C>A	Promotor
	rs2740204	3081821G>T	codón sinónimo
OXTR	rs2254298	8760542G>A	Intron
	rs53576	8762685A>G	Intron
	rs2228485	8768017G>A	codón sinónimo
CNR1	rs806368	88140381T>C	3'UTR
	rs1049353	88143916C>T	Exón
	rs806379	88151548A>T	Intron
	rs806380	88154934A>G	Intron
DDC	rs11238133	50475216A>C	Intron
	rs6951648	50499795G>A	Intron
	rs10499696	50553890A>G	Intron
	rs921451	50555587T>C	Intron
DRD2	rs1799978	4651A>G	Promotor

5.3.3. Genotipificación

Para llevar a cabo la genotipificación se utilizaron sondas TaqMan® con las secuencias específicas de los SNPs. También agua destilada grado molecular y MasterMix, el cual contiene la polimerasa, los nucleótidos y cofactores.

Las cantidades en las que se mezclaron los reactivos están indicadas en la tabla 2.

El análisis de los genotipos se realizó en un termociclador *Agilent Technologies*,

AriaMix Real Time PCR System®, cuyo programa de temperatura se encuentra en la tabla 3.

Tabla 2. Volúmenes de reactivos para solución de PCR.

Reactivos	µL (x1 reacción)
Master mix	5 µL
Sonda TaqMan	0.175 µL
H2O	2.825 µL
DNA (6ng/µL)	2 µL
Volumen final	10 µL

Tabla 3. Programa de temperatura para termociclador

Duración del ciclo	Temperatura (°C)	Nº de ciclos
10 minutos	95	1
15 segundos	95	50
1 minuto	60	50

Para realizar la discriminación alélica mediante PCR en tiempo real, se emplearon dos sondas, VIC y FAM, las que son específicas para regiones de entre 80 y 100 pares de bases y que contienen a los alelos en estudio. A medida que se produce la amplificación de las regiones que contienen a los alelos, las sondas, que son alelo-específicas, se van uniendo a los respectivos amplicones con los que tengan afinidad, permitiendo que el fluoróforo asociado a la sonda se active emitiendo una fluorescencia, que será distinta para cada sonda. De esta manera, por cada ciclo de PCR va aumentando la cantidad de fluorescencia, la que sirve de indicador de presencia de un alelo en particular. En consecuencia, al término de los ciclos de amplificación de cada muestra, se puede evidenciar un genotipo homocigoto para uno de los alelos en particular si se capta la fluorescencia de una de las dos sondas

solamente, de FAM o VIC, o bien la muestra puede evidenciar un genotipo heterocigoto, si se captan las fluorescencia de ambas sondas.

Los genotipos de cada uno de los pacientes se obtuvieron con este método, empleando el software Agilent AriaMx 1.0.

5.4. Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron usando el ambiente de análisis matemático R. La normalidad de los datos se analizó mediante una prueba de Shapiro Wilk. Las diferencias entre el total del puntaje del BPRS y las subescalas (síntomas positivos y negativos) se analizaron con una prueba Wilcoxon. Las diferencias en las frecuencias de genotipos entre los pacientes respondedores y resistentes se evaluaron con una prueba de X^2 . Los cálculos de equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) en los marcadores con 5 o más observaciones en cada genotipo se realizaron con una prueba de X^2 . Para los análisis que no cumplían con la condición (≤ 5), se utilizó la prueba exacta de Fisher. Se consideró un p -value < 0.05 como no consistente con el equilibrio (93). Adicionalmente, para cada variante seleccionada se realizó un test de asociación mediante regresión logística múltiple, considerando el fenotipo (variable binomial con las categorías respondedor y resistente) como variable de respuesta y como variables explicatorias el genotipo (Homocigoto para el alelo de referencia, heterocigoto y homocigoto para el alelo alternativo), el sexo, la edad y el sector de salud en el que se atiende el paciente (público o privado). La asociación se expresó como odds ratio (OR). Un p -value ≤ 0.05 se consideró significativo.

Para lidiar con los datos faltantes, en el caso de la edad, el valor faltante fue reemplazado con el promedio de edad por grupo.

6. Resultados

6.1. Características demográficas de los individuos

La muestra estuvo constituida por 277 individuos, 196 (70.7%) pacientes con esquizofrenia y 81 (29.3%) controles. De los pacientes con esquizofrenia, 61 (22%) eran respondedores al tratamiento y 135 (48.7%) eran resistentes al tratamiento. En cuanto a la distribución de los individuos por sexo, 108 no presentaban la información (*missing data* o *NA*), 114 (67.5%) eran hombres y 55 (32.5%) eran mujeres. La edad promedio de los individuos fue de 30.1 ± 12.2 años con un 60.3% de información faltante. En cuanto al sector de salud en el cual se atienden los pacientes. 190 (68.7%) pertenecen al sector público, 22 (7.9%) pertenecen al sector privado, 65 (23.5%) no presentaban la información (tabla4).

Tabla 4. Características demográficas

Características	Respondedores (n=61)	Resistentes (n=135)	Controles (n=81)	Total (n=277)
Genero	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
Masculino	44 (72.1)	57 (68.7)	13 (52)	114 (67.5)
Femenino	17 (27.9)	26 (31.3)	12 (48)	55 (32.5)
NA	-	52	56	108
	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE
Edad	27.59 (10.56)	40.91 (13.37)	26.16 (8.1)	30.1 (12.2)
NA N (%)	-	111 (82.2)	56 (69.1)	167 (60.3)
Sector de salud				
Publico	36 (59)	135 (100)	19 (24.5)	171(61.7)
Privado	22 (36)	0	-	22 (7.9)
NA	3 (1.8)	-	62 (76.5)	65 (23.5)

6.2. Características clínicas de los pacientes

Las figuras 5-7 muestran la distribución de los pacientes respecto al puntaje total del BPRS y sus subescalas de síntomas negativos y positivos. En la sintomatología psicótica de los pacientes resistentes se observó un promedio de 39.72 en el total del puntaje de BPRS, 10.01 en los síntomas positivos y 10.78 en los síntomas negativos, mientras que en el grupo de respondedores se observaron promedios de 35.9, 7.39 y 9.68 respectivamente. La diferencia en el promedio de los síntomas positivos entre ambos grupos fue significativamente diferente ($P=0.005$) (tabla 5).

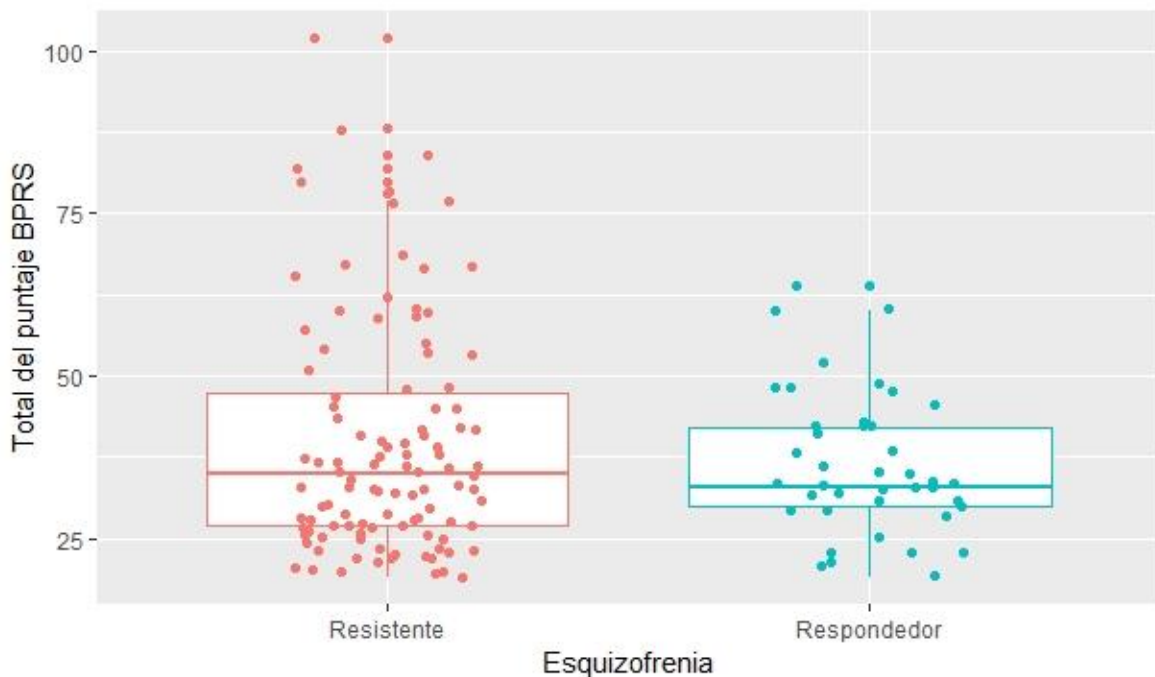


Figura 5. Distribución del total de puntaje de BPRS de los pacientes resistentes y respondedores.

Se muestra la distribución de los pacientes con esquizofrenia resistente y respondedora al tratamiento con antipsicóticos, de acuerdo a su puntaje total de BPRS. Se observa que una fracción del grupo resistente al tratamiento presenta puntajes más altos.

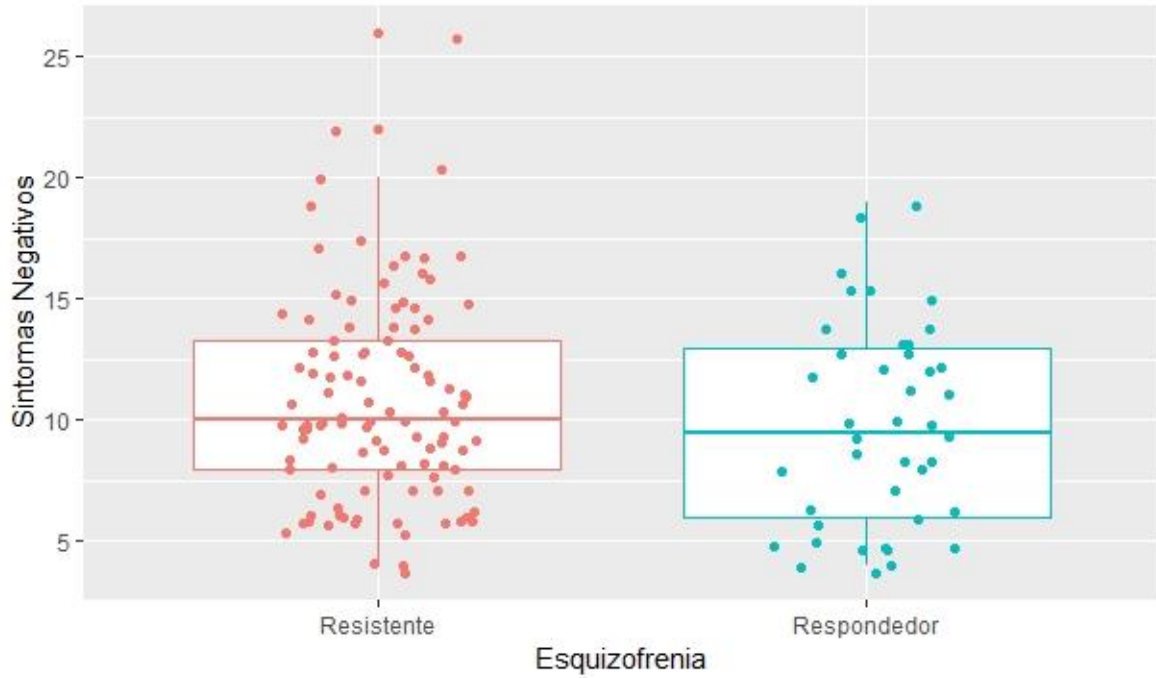


Figura 6. Distribución de la subescala de síntomas negativos de los pacientes resistentes y respondedores

Se muestra la comparación de los síntomas negativos en el grupo resistente y el grupo respondedor, donde se muestra una similitud en el puntaje de los síntomas negativos de ambos grupos.

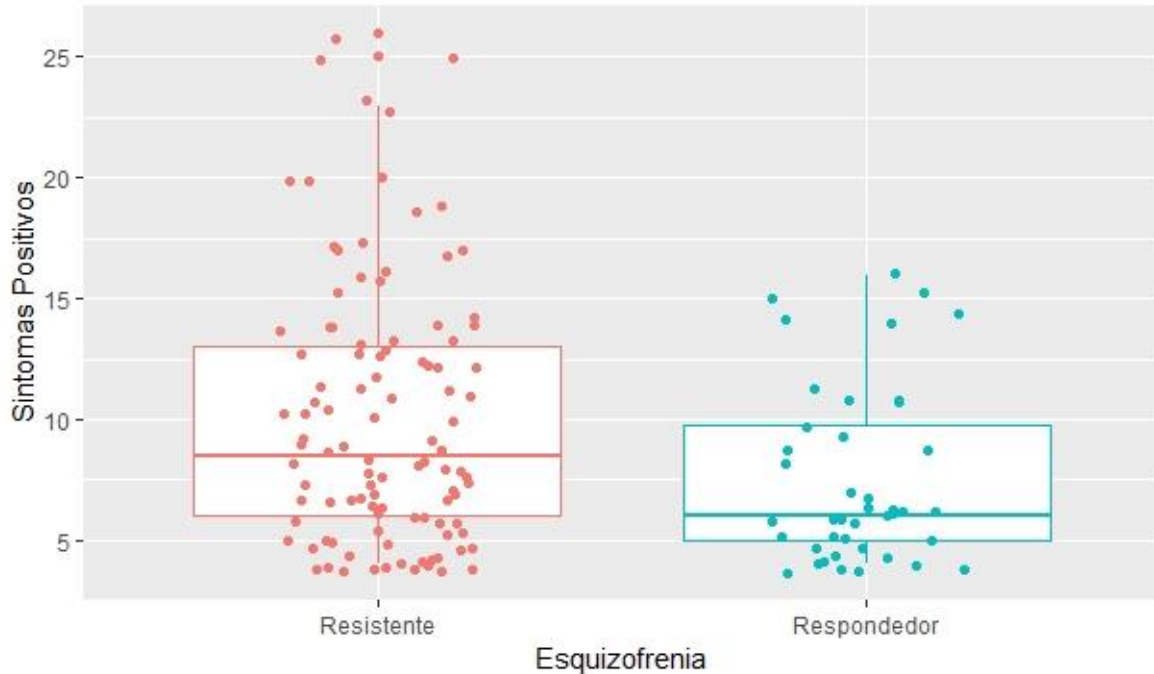


Figura 7. Distribución de la subescala de los síntomas positivos de los pacientes resistentes y respondedores.

Se muestra una comparación de los síntomas positivos en el grupo resistente y el grupo respondedor, se observa un menor puntaje de los síntomas positivos en el grupo respondedor en comparación al grupo resistente.

Tabla 5. Puntaje de los síntomas psicóticos en los pacientes resistentes y respondedores.

	Resistentes	Respondedores	p-value *
BPRS total	39.72 (17.83)	35.9 (10.39)	0.78
Síntomas positivos	10.01 (5.39)	7.39 (3.54)	0.005
Síntomas negativos	10.78 (4.18)	9.68 (4.11)	0.15

Los síntomas están reportados como promedio (Desviación estándar), BPRS (*Brief Psychotic Rating Scale*). La prueba de normalidad Shapiro-Wilk arrojó un $p < 0.05$ para cada variable. * Prueba Wilcoxon.

6.3. Estimación y comparación de frecuencias genotípicas y alélicas

Las frecuencias genotípicas de los 15 SNPs estudiados se muestran en las tablas 5-9 de acuerdo al gen al que pertenecen. Dos de los SNPs (*OXT*: rs2740210

($p=0.03$), *DDC*: rs10499696 ($p<0.05$), tablas 6 y 9) no se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg en los controles.

En cuanto a las frecuencias genotípicas, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los casos resistentes y respondedores en 8 de los SNPs: *OXT* rs2740210 ($p=0.03$), *OXTR* rs2228485 ($p<0.01$), *CNR1* rs806368 ($p<0.01$), rs1049353 ($p<0.01$), rs806379 ($p<0.01$) y rs806380 ($p<0.01$), *DDC* rs10499696 ($p=0.001$) y *DRD2* rs1799978 ($p=0.005$). Mientras que entre los casos con esquizofrenia y los controles solo se observó diferencia estadísticamente significativa en el SNP *CNR1* rs806379 ($p=0.001$).

Tabla 6. Frecuencias genotípicas de tres SNPs del gen *OXT* en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.

OXT								
SNP	Genotipo	Respondedores N (%)	Resistentes N (%)	Pacientes N (%)	Controles N (%)	HWE	p 1	p 2
rs877172	GG	12 (19.7)	16 (11.9)	28 (14.3)	16 (19.7)	0.815	0.05 ¹	0.16 ¹
	TG	29 (47.5)	50 (37)	79 (40.3)	38 (46.9)			
	TT	20 (32.8)	69 (51.1)	89 (45.4)	27 (33.3)			
rs2740210	AA	11 (18)	18 (13.3)	29 (14.8)	13 (16)	0.589	0.03 ^{*1}	0.73 ¹
	CA	30 (49.2)	43 (31.9)	73 (37.2)	35 (43.2)			
	CC	20 (32.8)	74 (54.8)	94 (48)	33 (40.8)			
rs2710204	GG	18 (29.5)	34 (25.2)	52 (26.5)	18 (22.2)	0.198	0.10 ¹	0.61 ¹
	GT	25 (41)	76 (56.3)	101 (51.5)	47 (58)			
	TT	18 (29.5)	25 (18.5)	43 (21.9)	16 (19.8)			

HWE, Hardy-Weinberg, p-value 1- Pacientes respondedores y pacientes resistentes. p-value 2- Pacientes totales y controles, Prueba de X^2 .

Tabla 7. Frecuencias genóticas de tres SNPs del gen OXTR en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.

OXTR								
SNP	Genotipo	Respondedores N (%)	Resistentes N (%)	Pacientes N (%)	Controles N (%)	HWE	P 1	p 2
rs2254298	AA	2 (3.3)	5 (3.7)	7 (3.6)	2 (2.5)	0.501	0.43 ²	0.34 ²
	GA	13 (21.3)	41 (30.4)	54 (27.6)	29 (36.3)			
	GG	46 (75.4)	89 (65.9)	135 (68.9)	49 (61.2)			
rs53576	AA	8 (13.1)	18 (13.3)	26 (13.3)	10 (12.3)	0.724	0.91 ¹	0.97 ¹
	GA	28 (45.9)	66 (48.9)	94 (47.9)	40 (49.4)			
	GG	25 (41)	51 (37.8)	76 (38.8)	31 (38.3)			
rs2228485	AA	4 (6.7)	62 (45.9)	66 (33.8)	30 (37.0)	0.417	1.9e-08 ^{*2}	0.85 ¹
	AG	36 (60)	55 (40.7)	91 (46.7)	35 (43.2)			
	GG	20 (33.3)	18 (13.3)	38 (19.5)	16 (19.8)			

HWE, Hardy-Weinberg, p-value 1- Pacientes respondedores y pacientes resistentes. p-value 2- Pacientes totales y controles, Prueba de X². Prueba exacta de Fisher.

Tabla 8. Frecuencias genóticas de cuatro SNPs del gen CNR1 en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.

CNR1								
SNP	Genotipo	Respondedores N (%)	Resistentes N (%)	Pacientes N (%)	Controles N (%)	HWE	p 1	p 2
rs806368	CC	39 (63.9)	22 (16.3)	61 (31.1)	15 (18.8)	0.922 ¹	1.9e-12 ^{*2}	0.10 ¹
	TC	19 (31.2)	55 (40.7)	74 (37.8)	38 (47.5)			
	TT	3 (4.9)	58 (42.9)	61 (31.1)	27 (33.7)			
rs1049353	GG	5 (8.2)	64 (47.4)	69 (35.6)	38 (46.9)	0.116 ¹	8.7e-08 ^{*1}	0.11 ¹
	GA	26 (42.6)	45 (33.3)	71 (36)	28 (34.6)			
	AA	30 (49.2)	26 (19.3)	56 (28.4)	15 (18.5)			
rs806379	AA	37 (60.7)	49 (36.3)	86 (43.9)	37 (45.7)	0.489 ¹	0.01 ^{*1}	0.001 ^{*1}
	AT	14 (22.9)	44 (32.6)	58 (29.6)	38 (46.9)			
	TT	10 (16.4)	42 (31.1)	52 (26.5)	6 (7.4)			
rs806380	AA	2 (3.3)	61 (45.2)	63 (32.1)	24 (29.6)	0.201 ¹	1.6e-20 ^{*2}	0.92 ¹
	AG	16 (26.2)	63 (46.7)	79 (40.3)	34 (42)			
	GG	43 (70.5)	11 (8.1)	54 (27.6)	23 (28.4)			

HWE, Hardy-Weinberg, p-value 1- Pacientes respondedores y pacientes resistentes. p-value 2- Pacientes totales y controles. ¹Prueba de X². ²Prueba exacta de Fisher.

Tabla 9. Frecuencias genotípicas de cuatro SNPs del gen DDC en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.

DDC								
SNP	Genotipo	Respondedores N (%)	Resistentes N (%)	Pacientes N (%)	Controles N (%)	HWE	p 1	p 2
rs11238133	AA	2 (3.3)	16 (11.9)	18 (9.2)	13 (16)	0.149 ¹	0.08 ²	0.18 ²
	CA	26 (42.6)	63 (46.7)	89 (45.4)	30 (37)			
	CC	33 (54.1)	56 (41.4)	89 (45.4)	38 (47)			
rs6951648	AA	3 (4.9)	8 (5.9)	11 (5.6)	1 (1.3)	0.99 ²	0.99 ²	0.14 ²
	GA	19 (31.1)	43 (31.9)	62 (31.6)	21 (26.2)			
	GG	39 (64)	84 (62.2)	123 (62.8)	58 (72.5)			
rs10499696	AA	2 (3.3)	106 (78.5)	108 (55.4)	41 (51.3)	4.2e-10 ^{*1}	0.001 ^{*2}	0.34 ¹
	AG	14 (23.3)	21 (15.6)	35 (17.9)	11 (13.7)			
	GG	44 (73.3)	8 (5.9)	52 (26.7)	28 (35)			
rs921451	CC	2 (3.4)	13 (9.8)	15 (7.7)	8 (10)	0.586 ¹	0.31 ²	0.78 ¹
	TC	24 (40.7)	56 (41.4)	80 (41.2)	30 (37.5)			
	TT	33 (55.9)	66 (48.8)	99 (51.1)	42 (52.5)			

HWE, Hardy-Weinberg, p-value 1- Pacientes respondedores y pacientes resistentes. p-value 2- Pacientes totales y controles. ¹Prueba de X². ²Prueba exacta de Fisher.

Tabla 10. Frecuencias genotípicas del SNP rs1799978 del gen DRD2 en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.

DRD2								
SNP	Genotipo	Respondedores N (%)	Resistentes N (%)	Pacientes N (%)	Controles N (%)	HWE	p 1	p 2
rs1799978	AA	48 (78.7)	94 (69.6)	142 (72.4)	67 (82.7)	0.035 ^{*2}	0.005 ^{*2}	0.09 ²
	AG	13 (21.3)	19 (14.1)	32 (16.3)	11 (13.6)			
	GG	0 (0)	22 (16.3)	22 (11.2)	3 (3.7)			

HWE, Hardy-Weinberg, p-value 1- Pacientes respondedores y pacientes resistentes. p-value 2- Pacientes totales y controles. ¹Prueba de X². ²Prueba exacta de Fisher.

Las frecuencias alélicas de los 16 SNPs estudiados se muestran en las tablas 11-15 de acuerdo al gen al que pertenecen, se observaron diferencias estadísticamente

significativas entre los casos resistentes y respondedores en 11 de los SNPs: *OXT* rs877172 ($p=0.02$), rs2740210 ($p=0.02$), *OXTR* rs2254298 ($p=0.02$), rs22228485 ($p<0.001$), *CNR1* rs806368 ($p<0.001$), rs1049353 ($p<0.001$), rs806379 ($p=0.0004$), rs806380 ($p<0.001$), *DDC* rs11283133 ($p=0.04$), rs10499696 ($p<0.001$), *DRD2* rs1799978 ($p=0.01$). Los 8 SNPs con frecuencias genotípicas diferentes entre casos y controles mostraron consistentemente diferencias en las frecuencias alélicas, mientras que los SNPs: *OXT* rs877172, *OXTR* 2254298 y *DDC* rs11283133, solo mostraron diferencias en las frecuencias alélicas.

En cuanto a los casos con esquizofrenia y los controles solo se observaron diferencias estadísticamente significativas en 3 SNPs: *CNR1* 1049353 ($p=0.04$), rs806379 ($p<0.001$), *DRD2* rs1799978 ($p=0.01$). El SNP con frecuencias genotípicas diferentes entre casos con esquizofrenia y controles mostró consistentemente diferencias alélicas, mientras que los SNPs: *CNR1* rs1047353 y *DRD2* rs1799978 solo mostraron diferencias en las frecuencias alélicas.

Tabla 11. Frecuencias alélicas de tres SNPs del gen *OXT* en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.

OXT							
SNP	Alelos	Respondedores (n=61) N (%)	Resistentes (n=135) N (%)	Pacientes (n=196) N (%)	Controles (n=81) N (%)	p 1	p 2
rs877172	T	69 (57)	188 (70)	257 (65.6)	92 (57)	0.02	0.06
	G	53 (43)	82 (30)	135 (35.4)	70 (43)		
rs2740210	C	70 (57)	190 (70)	260 (66.3)	101 (62)	0.02	0.43
	A	52 (43)	80 (30)	132 (33.7)	61 (38)		
rs2740204	G	54 (47)	144 (53)	198 (51.4)	83 (51)	0.30	0.99
	T	61 (53)	126 (47)	187 (48.6)	79 (49)		

p-value 1- Pacientes respondedores y pacientes resistentes. p-value 2- Pacientes totales y controles. Prueba de X^2 .

Tabla 12. Frecuencias alélicas de tres SNPs del gen OXTR en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.

OXTR							
SNP	Alelos	Respondedores (n=61) N (%)	Resistentes (n=135) N (%)	Pacientes (n=196) N (%)	Controles (n=81) N (%)	p 1	p 2
rs2254298	G	98 (92)	219 (81)	317 (84.1)	127 (79)	0.02	0.23
	A	8 (8)	51 (19)	59 (16)	33 (21)		
rs53576	G	78 (64)	168 (62)	246 (62.8)	102 (63)	0.83	0.99
	A	44 (36)	102 (38)	146 (37.2)	60 (37)		
rs2228485	A	44 (37)	179 (66)	223 (57.2)	95 (59)	8.94E-08	0.82
	G	76 (63)	91 (34)	167 (42.8)	67 (40)		

p-value 1- Pacientes respondedores y pacientes resistentes. p-value 2- Pacientes totales y controles. Prueba de X².

Tabla 13. Frecuencias alélicas de cuatro SNPs del gen CNR1 en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.

CNR1							
SNP	Alelos	Respondedores (n=61) N (%)	Resistentes (n=135) N (%)	Pacientes (n=196) N (%)	Controles (n=81) N (%)	p 1	p 2
rs806368	T	25 (20)	169 (63)	194 (49.5)	92 (58)	2.74E-14	0.11
	C	97 (80)	101 (37)	198 (50.5)	68 (43)		
rs1049353	G	36 (30)	173 (64)	209 (53.3)	104 (34)	4.32E-10	0.02
	A	86 (70)	97 (36)	183 (46.7)	58 (36)		
rs806379	A	88 (72)	142 (53)	230 (58.7)	112 (69)	0.0004	0.03
	T	34 (28)	128 (47)	162 (41.3)	50 (31)		
rs806380	A	20 (16)	185 (69)	205 (52.3)	82 (51)	3.16E-21	0.79
	G	102 (84)	85 (31)	187 (47.7)	80 (49)		

p-value 1- Pacientes respondedores y pacientes resistentes. p-value 2- Pacientes totales y controles. Prueba de X².

Tabla 14. Frecuencias alélicas de cuatro SNPs del gen DDC en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.

DDC							
SNP	Alelos	Respondedores (n=61) N (%)	Resistentes (n=135) N (%)	Pacientes (n=196) N (%)	Controles (n=81) N (%)	p 1	p 2
rs11238133	C	92 (75)	173 (64)	265 (67.6)	106 (65)	0.04	0.69
	A	30 (25)	97 (36)	127 (32.4)	56 (35)		
rs6951648	G	97 (80)	211 (78)	308 (78.6)	137 (86)	0.86	0.07
	A	25 (20)	59 (22)	84 (21.4)	23 (14)		
rs10499696	A	18 (15)	233 (86)	251 (64.4)	95 (59)	2.92E-41	0.32
	G	102 (85)	37 (14)	139 (35.6)	65 (41)		
rs921451	T	90 (76)	188 (70)	278 (71.6)	114 (71)	0.23	0.99
	C	28 (24)	82 (30)	110 (28.4)	46 (29)		

p-value 1- Pacientes respondedores y pacientes resistentes. p-value 2- Pacientes totales y controles. Prueba de X².

Tabla 15. Frecuencias alélicas del SNP rs1799978 del gen DRD2 en pacientes resistentes, respondedores al tratamiento y controles.

DRD2							
SNP	Alelos	Respondedores (n=61)	Resistentes (n=135)	Pacientes (n=196)	Controles (n=81)	p 1	p 2
		N (%)	N (%)	N (%)	N (%)		
rs1799978	A	109 (89)	207 (77)	316 (80.6)	145 (90)	0.01	0.02
	G	13 (11)	63 (23)	76 (19.4)	17 (10)		

p-value 1- Pacientes respondedores y pacientes resistentes. p-value 2- Pacientes totales y controles. Prueba de X².

6.4. Asociación de las variantes con la respuesta al tratamiento

Finalmente, se evaluó si alguna de las variantes analizadas se asociaba con la respuesta al tratamiento. Se consideraron como variables predictoras el genotipo de cada variante, el sexo, la edad y el sector de salud en el que se atiende el paciente (público o privado). No obstante se observó una proporción de datos faltantes para algunos individuos en el

conjunto de variables a analizar (Figura 8). Aquellos individuos con información faltante para el sexo fueron excluidos ($n = 52$), mientras que los datos faltantes para la edad fueron reemplazados con el valor promedio para cada grupo. Finalmente se obtuvo un total de 58 respondedores y 83 resistentes que contaban con la información completa.

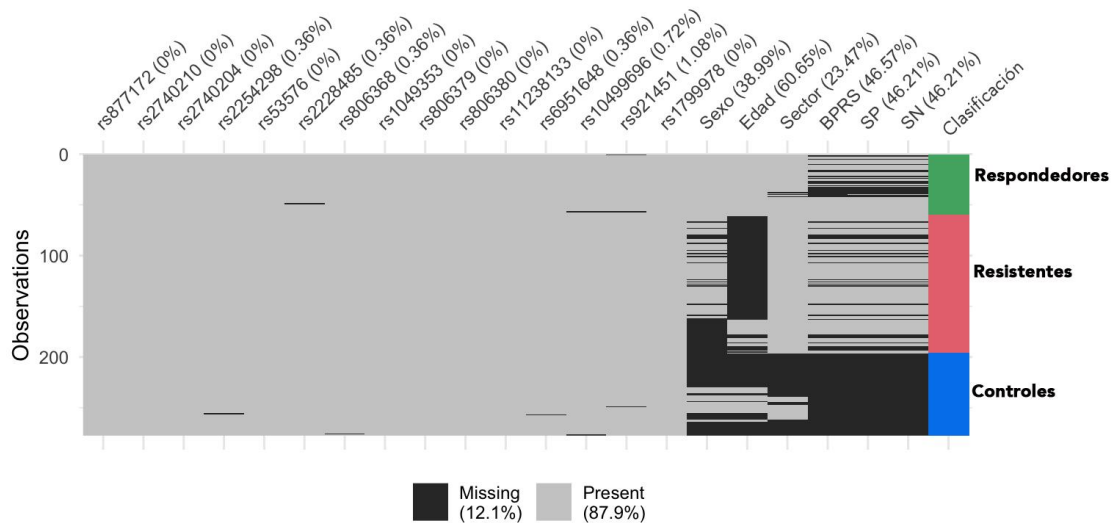


Figura 8. Análisis exploratorio de la proporción de datos faltantes en las 21 variables contenidas en el dataset.

En esta figura se muestra las observaciones de cada una de las variables que fueron para cada uno de los grupos, las primeras 15 pertenecen a los SNPs estudiados, las siguientes tres pertenecen a los datos demográficos, las tres siguientes pertenecen a los datos clínicos y en la última columna se ven divididos los grupos de los individuos estudiados, donde el las marcadas con negro son datos faltantes y las de color gris son datos que estaban presentes.

El análisis de regresión logística múltiple en este conjunto de individuos permitió identificar 4 SNPs *OXTR* rs2228485, *CNR1* rs806368, rs1049353 y *DDC* rs10499696 donde el genotipo proporciona un efecto protector ORs de 0.13, 0.07, 0.11, 0.01, 0.07, 0.02 y 0.09 respectivamente (tabla 16).

Los análisis de devianza con la función anova para cada uno de los modelos de regresión sugieren que las variables que explican la mayor proporción de la variación fueron el

genotipo (en los casos significativos) y la edad, mientras que el resto de las variables explican una proporción despreciable de la varianza.

Tabla 16. Resultados para 4 marcadores significativamente asociados con la respuesta al tratamiento en pacientes chilenos con esquizofrenia.

SNP	Genotipo	P	OR	95 % IC	
OXTR rs2228485	A/A Referencia	-	-	-	-
	A/G	0.015	0.13	0.02	0.57
	G/G	0.0039	0.07	0.01	0.37
CNR1 rs806368	T/T Referencia	-	-	-	-
	T/C	0.07	0.11	0.01	0.84
	C/C	0.0001	0.01	0.0005	0.07
CNR1 rs1049353	G/G Referencia	-	-	-	-
	G/A	0.004	0.07	0.01	0.35
	A/A	0.0001	0.02	0.002	0.10
DDC rs10499696	A/A Referencia	-	-	-	-
	A/G	0.002	0.09	0.01	0.39
	G/G	1.1E-05	0.002	-Inf	0.02

7. Discusión

La esquizofrenia es una enfermedad heterogénea la cual se ha postulado como multifactorial, siendo el resultado de factores genéticos y ambientales que desencadenan la enfermedad. Algunos análisis de asociación de variantes genéticas han permitido identificar ciertos genes que podrían conferir susceptibilidad no solo a presentar esquizofrenia, sino también a una pobre respuesta al tratamiento.

En esta tesis se estimaron y analizaron las frecuencias alélicas y genotípicas de polimorfismos en genes candidatos relacionados con esquizofrenia; *OXT*, *OXTR*, *CNR1*, *DDC* y *DRD2*, tanto entre pacientes con esquizofrenia y un grupo control, como entre pacientes respondedores y resistentes al tratamiento con antipsicóticos. A continuación se hará un análisis detallado de cada uno de estos genes a la luz de los resultados obtenidos durante la elaboración de esta tesis.

Polimorfismos del gen *OXT*

La oxitocina es considerada desde el punto de vista funcional como un neurotransmisor y/o neuromodulador, ha sido considerado en estudios con pacientes con esquizofrenia y autismo ya que las alteraciones en el sistema de oxitocina estarían vinculadas a las dificultades en las habilidades de cognición social, específicamente en el reconocimiento de emociones, percepción social y empatía. Existe evidencia de la administración de *OXT* vía intranasal en sujetos con esquizofrenia, donde se observaron disminuciones de los síntomas positivos y negativos en los sujetos que recibieron la *OXT* (94).

En este trabajo se encontró que el genotipo CC de *OXT* rs2740210 y el alelo T de *OXT* rs877172 son más frecuentes en los pacientes resistentes. Este es un hallazgo interesante, dado que la variante rs2740210 se encuentra en una región promotora mientras que la variante rs877172 se encuentra en un enhancer, lo que podría sugerir que dichas variantes estarían involucradas o tendrían un efecto sobre la regulación de la transcripción, alterándose así los niveles de la expresión génica de la *OXT* en los pacientes resistentes.

Polimorfismos del gen *OXTR*

Algunas variantes del gen *OXTR* han sido asociadas en la expresión emocional, diferencias individuales, autismo, esquizofrenia, psicopatía. Aquí se observó que el tanto el alelo A como el genotipo AA de *OXTR* rs2228485 y el alelo G de rs2254298 son más frecuentes en los pacientes resistentes.

El posible efecto funcional de estas variables no ha sido reportado en la literatura. Sin embargo rs2228485 siendo una variante sinónima, aunque no modifica el aminoácido, podría tener un papel en la estabilidad y estructura de los ARNm mientras que rs2254298 siendo una variante intrónica podría afectar la estructura del ARN, incluyendo el corte y empalme, la regulación de la traducción del ARNm a proteína y la estabilidad del ARNm.

Polimorfismos del gen *CNR1*

El sistema endocannabinoide ha sido importante en estudios de enfermedades psiquiátricas como la esquizofrenia debido a su relación entre la psicosis y los cannabis, especialmente el gen *CNR1* que codifica para CB1 el principal receptor del sistema.

En este trabajo se estudiaron 4 SNPs que han sido relacionados a la esquizofrenia o a su posible respuesta al tratamiento. Se observaron diferencias significativas en los 4 SNPs. El genotipo TT y el alelo T de rs806368 fueron más frecuentes en los pacientes resistentes.

Para el rs1049353, el genotipo GG y el alelo G también fueron más frecuente en los pacientes resistentes. Mientras que entre los pacientes con esquizofrenia y el grupo control, el genotipo GG resultó más frecuente en los controles. Esto es interesante, dado que sugiere que esta variante se asocia con la resistencia al tratamiento pero también está inversamente asociada con la susceptibilidad a la enfermedad.

El genotipo AA y el alelo A de rs806379 se observaron con mayor frecuencia en pacientes respondedores. Igualmente el genotipo AA también fue más frecuente entre los controles frente a los pacientes con esquizofrenia. Es este caso la variante no solo sugiere una mejor respuesta al tratamiento, sino que también se asocia con un menor grado de susceptibilidad a la enfermedad.

De igual forma el genotipo GG y el alelo G de rs806380 fueron más frecuentes en pacientes respondedores.

En un estudio de Hamdani *et al.*, reclutaron a 133 pacientes con esquizofrenia de población francesa, los pacientes fueron tratados con antipsicóticos atípicos (incluyendo clozapina). Se analizaron cuatro SNPs de *CNR1*: rs806368, rs1049353, rs806379 y rs806380. Donde obtuvieron resultados similares a los de este trabajo con respecto al alelo G de rs1049353; se observó un exceso en pacientes con esquizofrenia refractaria en comparación con los respondedores (85.6%, 71.6%;

$\chi^2=7.420$; $p=0.006$). Esta observación fue independiente de la región geográfica de origen del paciente (63). Sin embargo, Schennach *et al.*, en una carta reciente al editor, reportaron que no encontraron una asociación significativa entre rs1049353 y la mejoría temprana o la respuesta clínica en población alemana (95). Además, otros estudios indican una asociación nominal entre las variantes de *CNR1* y el síndrome metabólico en pacientes con esquizofrenia (96).

Estos resultados indican una posible tendencia respecto al SNPs rs1049353 y su posible utilidad en la predicción de la resistencia al tratamiento. En cuanto a las otras variantes estudiadas del gen *CNR1*, se sabe que rs806368 es una variante 3'UTR, rs1049353 es una variante sinónima, mientras que rs806379 y rs806380 son variantes intrónicas. Aunque no hay evidencia descrita donde se explique cómo estas otras variantes podrían ejercer un efecto sobre el fenotipo, se sabe que estas variantes no son capaces de sustituir aminoácidos ni cambiar la estructura de la proteína, ni que alteran la expresión de ARNm o interrumpen la transcripción en regiones promotoras. Por lo que podría considerarse que su asociación se deba a la existencia de un desequilibrio de ligamiento con otro SNP funcional a lo largo del gen, de manera que ese posible haplotipo podría ser blanco de otro estudio.

Polimorfismos del gen *DDC*

La DDC es una enzima involucrada directamente en la síntesis de dopamina y serotonina, e indirectamente en la síntesis de noradrenalina. En este estudio se observó que el genotipo AA y el alelo A de rs10499696 eran más frecuentes en pacientes resistentes. Por otro lado, el alelo C de rs11283133 fue más frecuente en los pacientes respondedores.

En resultados de estudios anteriores del Laboratorio de Genética y Genómica de Enfermedades Neuropsiquiátricas, se observó una tendencia del genotipo AA en pacientes refractarios al tratamiento con clozapina, donde no se observaron diferencias significativas lo cual podría deberse al tamaño de la muestra, ya que estudios posteriores (97) así como el estudio presente han corroborado la asociación con un mayor número de pacientes.

Ya que esta es una variante intrónica, el posible efecto biológico podría estar relacionado con la alteración de la estructura del ARN, incluyendo el corte y empalme, la regulación de la traducción del ARNm a proteína y la estabilidad del ARNm. No obstante, en estudios recientes se sugiere que el subgrupo de pacientes resistentes al tratamiento puede no exhibir una disfunción dopaminérgica (66).

Polimorfismo del gen *DRD2*

El receptor D2 de DA es ampliamente estudiado en esquizofrenia y la respuesta al tratamiento con antipsicóticos, debido a que todos los antipsicóticos actúan a nivel de ese receptor. En este estudio se observó que el genotipo AA y el alelo A de rs1799978 eran más frecuente en los pacientes respondedores. Igualmente el alelo A de esta variante fue más frecuente en los controles que en los pacientes con esquizofrenia. Esto sugiere que la variante se asocia no solo con una mejor respuesta al tratamiento sino también con una menor susceptibilidad a la enfermedad.

En un estudio de Lencz T. *et al.*, que evaluó la respuesta al tratamiento con antipsicóticos como la olanzapina y risperidona, se observó una asociación entre

los pacientes que portaban por lo menos un alelo G y una respuesta más rápida al tratamiento, en comparación con los pacientes que portaban el genotipo AA.

Esta discrepancia frente a nuestros resultados se podría explicar considerando que estamos analizando un marcador que no necesariamente es la variante causal, por lo que se puede contemplar la existencia de un desequilibrio de ligamiento, donde la variante genética que podría dar la explicación al fenotipo se esté heredando junto con la variante de *DDC* estudiada.

Respecto con la posible causa biológica de la variante encontrada en una región promotora del gen *DRD2* rs1799978 podría modificar, destruir o crear sitios de unión y reconocimiento para factores de transcripción, alterando de esta manera los niveles de expresión génica y llevando a una sobreexpresión de los mismos, pero en este caso podría ser que el gen este en desequilibrio de ligamiento y sea alguna otra variante que este acompañando a este haplotipo la causante de una pobre respuesta al tratamiento.

Finalmente, el modelo de regresión logística múltiple, permitió establecer que los genotipos de los marcadores *OXTR* rs228485 GG, *CNR1*: rs806368 CC, rs1049353 TT, podrían actuar como protectores, en donde los portadores de los genotipos alternativos responderían mejor al tratamiento que los pacientes con el genotipo de referencia.

Cuando se compararon las frecuencias alélicas de los grupos de pacientes estudiados con otras poblaciones se observó la similitud del grupo control y las poblaciones Europa y de Asia oriental, al igual que en el grupo de resistentes y en

los respondedores se observó una similitud entre las poblaciones de Europa, Americana y Asia Oriental (tablas anexas 1-13)

Limitaciones

Entre las limitaciones de este trabajo, en primer lugar no contamos con la etnia exacta de nuestra población sino con una aproximación de ella mediante el sector de salud en el que se atienden como lo es el público y privado, donde podremos suponer que los que se atienden en el sector privado tiene mayor porcentaje de ascendencia Europea que los pacientes que se atienden en el sector público, teniendo estos mayor ascendencia amerindia, pero observamos una heterogeneidad en cuanto a similitud con distintas poblaciones, lo cual se podría sugerir que en ambos grupos ocurre una heterogeneidad en los pacientes de distintas mezclas de la población, pero no se puede descartar una estratificación. En segundo lugar, en el grupo de los pacientes respondedores no podemos descartar que alguno de estos pacientes sean posteriormente resistentes al tratamiento ya que alguno de ellos son pacientes que son recién reclutados y no se tiene la certeza que en algún punto del tratamiento pudieran dejar de responder adecuadamente. En tercer lugar, no contamos con el dato del tiempo transcurrido sin tratamiento o duración de la psicosis no tratada, de nuestros grupos de pacientes, que podría ser un factor confundente para la resistencia al tratamiento, debido que han observado en la psicosis no tratada de larga duración una relación con inicio insidioso de la esquizofrenia, mayor número de recaídas y rehospitalizaciones psiquiátricas durante el curso de la esquizofrenia, además de una pobre respuesta al tratamiento farmacológico con antipsicóticos. En cuarto

lugar, nuestro grupo de pacientes respondedores es más pequeño que nuestro grupo de pacientes resistentes, lo cual nos podría genera por azar no tener una adecuada representación de nuestra población. En quinto lugar, no se tomaron en cuenta genes que estuvieran involucrado en el metabolismo de los fármacos.

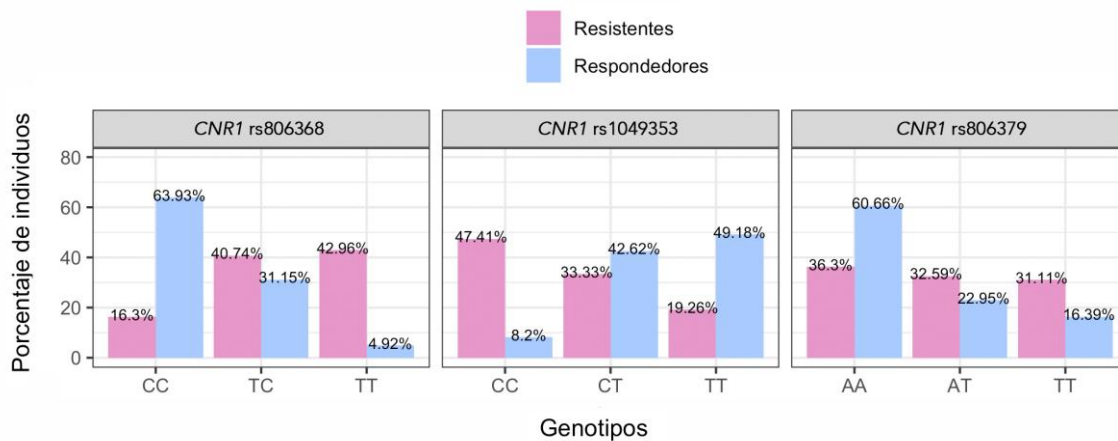
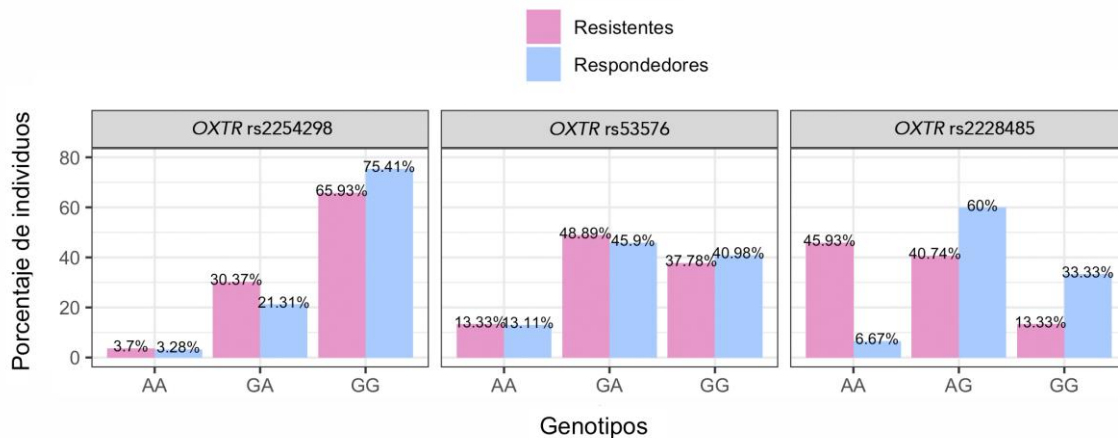
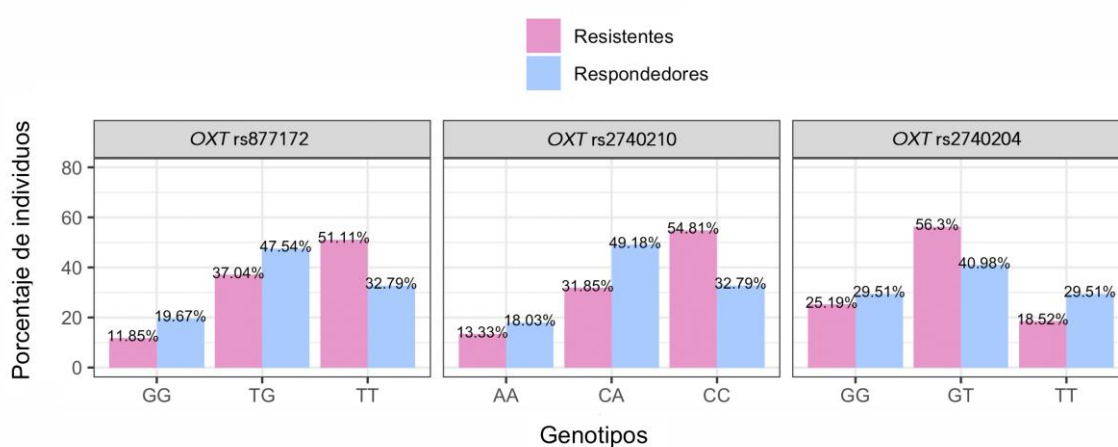
Dentro de las proyecciones futuras para este estudio, se consideran: 1) correr un panel de ancestría para toda la muestra de los pacientes, 2) incluir genes que estén involucrados en el metabolismo de los fármacos, 3) desarrollar un estudio longitudinal para controlar otros factores relacionados a la respuesta al tratamiento con antipsicóticos.

8. Conclusión

Como resultado de los análisis genéticos en pacientes resistentes y respondedores se llegó a un modelo en base a cuatro SNPs que resultaron predictores a la respuesta al tratamiento, los cuales sugieren que el portar de los alelos alternativos de estos SNPs podrían estar asociados a una mejor respuesta al tratamiento, los cuales han sido reportados continuamente como candidatos para enfermedades neuropsiquiátricas.

Estos resultados podrían servir como una herramienta útil para el tratamiento personalizado, donde los clínicos puedan identificar pacientes que podrían responder mejor al tratamiento y experimentar menos efectos adversos. Esto es crucial en un trastorno crónico como la esquizofrenia, y podría predecir mejor el pronóstico y tener menos deterioro funcional.

9. Anexos



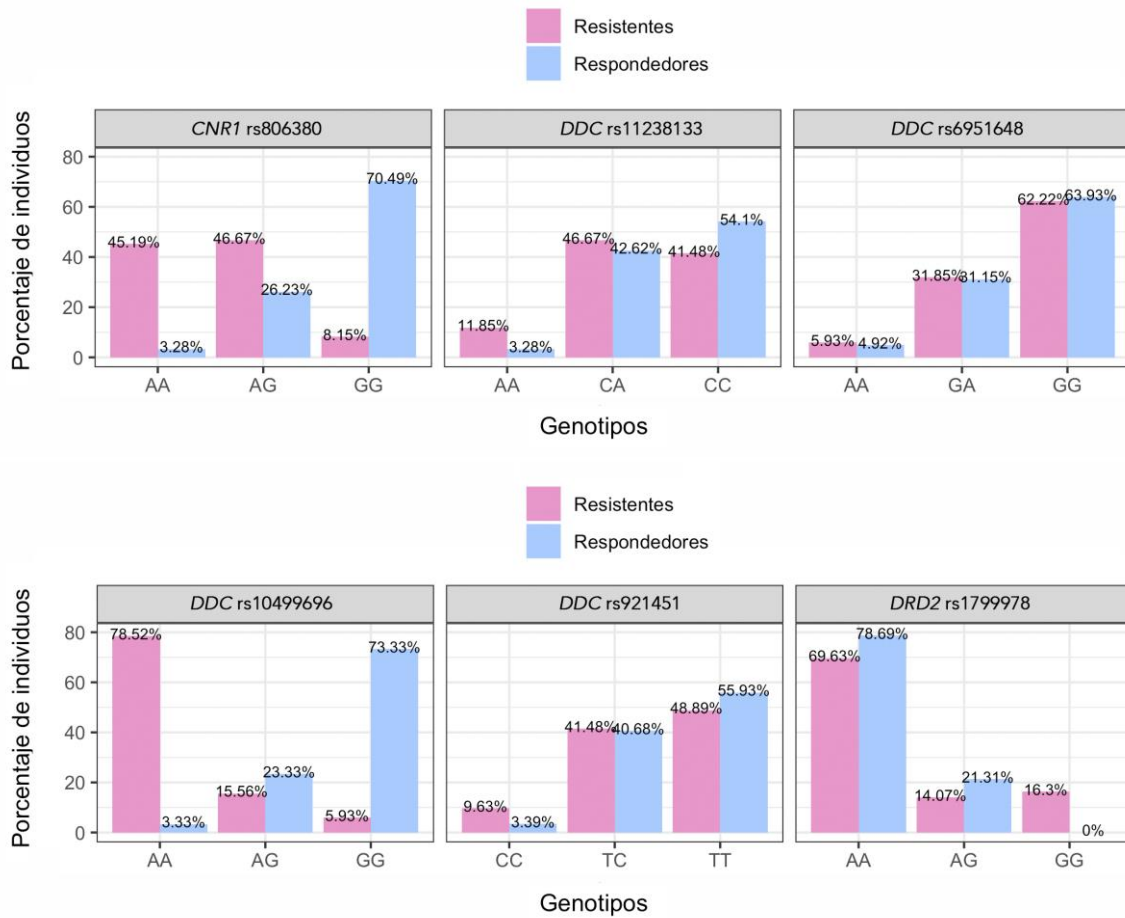


Figura anexa 1. Gráficos de las frecuencias genotípicas de los 15 SNPs.

Es esta figura se muestran las distribuciones de las frecuencias genotípicas para cada uno de los SNPs estudiados en esta tesis de los pacientes resistentes y respondedores.

Tabla anexa 1. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *OXT* rs877172.

<i>OXT</i> rs877172			
Población	n	T	G
Control	81	0.479	0.432
Pacientes	196	0.655	0.344
Respondedores	61	0.565	0.434
Resistentes	135	0.696	0.303
Global	5008	0.569	0.431
África	1322	0.558	0.442
Europa	1006	0.65	0.35
Americana	694	0.65	0.35
Asia oriental	1008	0.454	0.546

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3.

Tabla anexa 2. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *OXT* rs2740210.

<i>OXT</i> rs2740210			
Población	n	C	A
Control	81	0.623	0.376
Pacientes	196	0.663	0.336
Respondedores	61	0.573	0.426
Resistentes	135	0.703	0.296
Global	5008	0.733	0.267
África	1322	0.856	0.144
Europa	1006	0.696	0.304
Americana	694	0.55	0.45
Asia oriental	1008	0.752	0.248

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3

Tabla anexa 3. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *OXTR* rs2228485.

<i>OXTR</i> rs2228485			
Población	n	G	A
Control	81	0.413	0.586
Pacientes	195	0.428	0.571
Respondedores	60	0.633	0.366
Resistentes	135	0.337	0.662
Global	5008	0.282	0.718
África	1322	0.362	0.638
Europa	1006	0.24	0.76
Americana	694	0.41	0.59
Asia oriental	1008	0.273	0.727

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3

Tabla anexa 4. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *OXTR* rs2254298.

<i>OXTR</i> rs2254298			
Población	n	G	A
Control	81	0.793	0.206
Pacientes	195	0.843	0.156
Respondedores	60	0.924	0.075
Resistentes	135	0.811	0.188
Global	5008	0.793	0.207
África	1322	0.753	0.247
Europa	1006	0.889	0.11
Americana	694	0.78	0.22
Asia oriental	1008	0.659	0.341

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3

Tabla anexa 5. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *CNR1* rs806368.

<i>CNR1</i> rs806368			
Población	n	T	C
Control	80	0.575	0.425
Pacientes	196	0.494	0.505
Respondedores	61	0.204	0.795
Resistentes	135	0.625	0.374
Global	5008	0.73	0.27
África	1322	0.924	0.076
Europa	1006	0.781	0.219
Americana	694	0.64	0.36
Asia oriental	1008	0.507	0.493

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3

Tabla anexa 6. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *CNR1* rs1049353.

<i>CNR1</i> rs1049353			
Población	n	G	A
Control	81	0.641	0.358
Pacientes	196	0.533	0.466
Respondedores	61	0.295	0.704
Resistentes	135	0.64	0.359
Global	5008	0.871	0.129
África	1322	0.971	0.029
Europa	1006	0.742	0.258
Americana	694	0.85	0.15
Asia oriental	1008	0.924	0.076

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3

Tabla anexa 7. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *CNR1* rs806379.

CNR1 rs806379			
Población	n	A	T
Control	81	0.691	0.308
Pacientes	196	0.586	0.413
Respondedores	61	0.721	0.278
Resistentes	135	0.525	0.474
Global	5008	0.605	0.395
África	1322	0.442	0.558
Europa	1006	0.554	0.446
Americana	694	0.67	0.33
Asia oriental	1008	0.789	0.211

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3

Tabla anexa 8. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *CNR1* rs806380.

CNR1 rs806380			
Población	n	A	G
Control	81	0.506	0.493
Pacientes	196	0.522	0.477
Respondedores	61	0.163	0.836
Resistentes	135	0.685	0.314
Global	5008	0.795	0.205
África	1322	0.918	0.082
Europa	1006	0.677	0.323
Americana	694	0.79	0.21
Asia oriental	1008	0.811	0.189

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3

Tabla anexa 9. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *DDC* rs10499696.

<i>DDC</i> rs10499696			
Población	n	A	G
Control	80	0.593	0.406
Pacientes	195	0.643	0.356
Respondedores	60	0.15	0.85
Resistentes	135	0.862	0.137
Global	5008	0.899	0.101
África	1322	0.87	0.13
Europa	1006	0.859	0.141
Americana	694	0.91	0.09
Asia oriental	1008	0.994	0.006

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3

Tabla anexa 10. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *DDC* rs11238133.

<i>DDC</i> rs11238133			
Población	n	C	A
Control	80	0.552	0.291
Pacientes	195	0.676	0.323
Respondedores	60	0.754	0.245
Resistentes	135	0.64	0.359
Global	5008	0.652	0.348
África	1322	0.733	0.267
Europa	1006	0.665	0.335
Americana	694	0.72	0.28
Asia oriental	1008	0.552	0.448

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3

Tabla anexa 11. Distribución de frecuencias alélicas en diferentes poblaciones del gen *DRD2* rs1799978.

<i>DRD2</i> rs1799978			
Población	n	A	G
Control	81	0.895	0.104
Pacientes	196	0.806	0.193
Respondedores	61	0.893	0.106
Resistentes	135	0.766	0.233
Global	5008	0.881	0.119
África	1322	0.827	0.173
Europa	1006	0.94	0.06
Americana	694	0.92	0.08
Asia oriental	1008	0.822	0.178

Frecuencias alélicas de acuerdo con los datos proporcionados por el proyecto 1000 Genomas versión 3

10. Bibliografía

1. Leucht S, Burkard T, Henderson J, Maj M, Sartorius N. Physical illness and schizophrenia: a review of the literature. *Acta Psychiatr Scand.* 2007;116(5):317-33.
2. Millier A, Schmidt U, Angermeyer MC, Chauhan D, Murthy V, Toumi M, et al. Humanistic burden in schizophrenia: a literature review. *J Psychiatr Res.* 2014;54:85-93.
3. Zai G, Robbins TW, Sahakian BJ, Kennedy JL. A review of molecular genetic studies of neurocognitive deficits in schizophrenia. *Neuroscience and biobehavioral reviews.* 2017;72:50-67.
4. Bridges JF, Beusterien K, Heres S, Such P, Sanchez-Covisa J, Nylander AG, et al. Quantifying the treatment goals of people recently diagnosed with schizophrenia using best-worst scaling. *Patient preference and adherence.* 2018;12:63-70.
5. Davison J, O'Gorman A, Brennan L, Cotter DR. A systematic review of metabolite biomarkers of schizophrenia. *Schizophrenia research.* 2017.
6. Owen MJ, Sawa A, Mortensen PB. Schizophrenia. *Lancet.* 2016;388(10039):86-97.
7. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5®).* 2013;5a.
8. Gaebel W, Zielasek J. Focus on psychosis. *Dialogues in clinical neuroscience.* 2015;17(1):9-18.
9. Senormanci O, Celik SK, Valipour E, Dogan V, Senormanci G. Determination of candidate genes involved in schizophrenia using the whole-exome sequencing. *Bratislavske lekarske listy.* 2018;119(9):572-6. Epub 2018/09/19.
10. Dean L. Clozapine Therapy and CYP2D6, CYP1A2, and CYP3A4 Genotypes. In: Pratt V, McLeod H, Dean L, Malheiro A, Rubinstein W, editors. *Medical Genetics Summaries.* Bethesda (MD)2012.
11. Chen C, Cheng L, Grennan K, Pibiri F, Zhang C, Badner JA, et al. Two gene co-expression modules differentiate psychotics and controls. *Molecular psychiatry.* 2013;18(12):1308-14.
12. Ripke S, O'Dushlaine C, Chambert K, Moran JL, Kahler AK, Akterin S, et al. Genome-wide association analysis identifies 13 new risk loci for schizophrenia. *Nature genetics.* 2013;45(10):1150-9.
13. Schwab SG, Wildenauer DB. Genetics of psychiatric disorders in the GWAS era: an update on schizophrenia. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience.* 2013;263 Suppl 2:S147-54.
14. Xu B, Ionita-Laza I, Roos JL, Boone B, Woodrick S, Sun Y, et al. De novo gene mutations highlight patterns of genetic and neural complexity in schizophrenia. *Nature genetics.* 2012;44(12):1365-9.
15. Gaebel W, Zielasek J. Schizophrenia in 2020: Trends in diagnosis and therapy. *Psychiatry and clinical neurosciences.* 2015;69(11):661-73.
16. Birnbaum R, Weinberger DR. Genetic insights into the neurodevelopmental origins of schizophrenia. *Nature reviews Neuroscience.* 2017;18(12):727-40.
17. Moretti PN, Ota VK, Gouvea ES, Pedrini M, Santoro ML, Talarico F, et al. Accessing Gene Expression in Treatment-Resistant Schizophrenia. *Molecular neurobiology.* 2018.
18. Bakirhan A, Yalcin Sahiner S, Sahiner IV, Safak Y, Goka E. Association of serum brain derived neurotrophic factor with duration of drug-naive period and positive-negative symptom scores in drug naive schizophrenia. *PloS one.* 2017;12(12):e0189373.
19. Meltzer HY, Stahl SM. The dopamine hypothesis of schizophrenia: a review. *Schizophrenia bulletin.* 1976;2(1):19-76.

20. Stahl SM, Muntner N, Mignon L. Antipsychotics. New York: Cambridge University Press; 2009. xiii, 154 p. p.
21. Howes OD, Kapur S. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophrenia bulletin*. 2009;35(3):549-62.
22. Watis L, Chen SH, Chua HC, Chong SA, Sim K. Glutamatergic abnormalities of the thalamus in schizophrenia: a systematic review. *Journal of neural transmission*. 2008;115(3):493-511.
23. Millan MJ. N-Methyl-D-aspartate receptors as a target for improved antipsychotic agents: novel insights and clinical perspectives. *Psychopharmacology*. 2005;179(1):30-53.
24. Stone JM. Glutamatergic antipsychotic drugs: a new dawn in the treatment of schizophrenia? *Therapeutic advances in psychopharmacology*. 2011;1(1):5-18.
25. Tsai GE, Lin PY. Strategies to enhance N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotransmission in schizophrenia, a critical review and meta-analysis. *Current pharmaceutical design*. 2010;16(5):522-37.
26. Weiser M, Heresco-Levy U, Davidson M, Javitt DC, Werbeloff N, Gershon AA, et al. A multicenter, add-on randomized controlled trial of low-dose d-serine for negative and cognitive symptoms of schizophrenia. *The Journal of clinical psychiatry*. 2012;73(6):e728-34.
27. Howes O, McCutcheon R, Stone J. Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. *Journal of psychopharmacology*. 2015;29(2):97-115.
28. Volk DW, Lewis DA. The Role of Endocannabinoid Signaling in Cortical Inhibitory Neuron Dysfunction in Schizophrenia. *Biological psychiatry*. 2016;79(7):595-603.
29. Vigarío G, Kurohara SS, George FW, 3rd. Association of hemoglobin levels before and during radiotherapy with prognosis in uterine cervix cancer. *Radiology*. 1973;106(3):649-52.
30. Müller-Vahl KR EH. Cannabis and schizophrenia: towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia. *Expert Rev Neurother*. 2008;Vol. 3
31. Bakos J, Srancikova A, Havranek T, Bacova Z. Molecular Mechanisms of Oxytocin Signaling at the Synaptic Connection. *Neural plasticity*. 2018;2018:4864107. Epub 2018/07/31.
32. Standring S. *Gray's anatomy : the anatomical basis of clinical practice*. Elsevier 2016:1562.
33. Feifel D, Macdonald K, Nguyen A, Cobb P, Warlan H, Galangue B, et al. Adjunctive intranasal oxytocin reduces symptoms in schizophrenia patients. *Biological psychiatry*. 2010;68(7):678-80. Epub 2010/07/10.
34. Rich ME, Caldwell HK. A Role for Oxytocin in the Etiology and Treatment of Schizophrenia. *Frontiers in endocrinology*. 2015;6:90. Epub 2015/06/20.
35. van Os J, Burns T, Cavallaro R, Leucht S, Peuskens J, Helldin L, et al. Standardized remission criteria in schizophrenia. *Acta Psychiatr Scand*. 2006;113(2):91-5.
36. Casarotti H, Pardo V, Labarthe A, Labraga P, Valiño G, Fernández M, et al. Pautas actuales del tratamiento de los trastornos psicóticos. *Revista de psiquiatría del Uruguay*. 2003;6(1):76-110.
37. Ruderfer DM, Charney AW, Readhead B, Kidd BA, Kahler AK, Kenny PJ, et al. Polygenic overlap between schizophrenia risk and antipsychotic response: a genomic medicine approach. *The lancet Psychiatry*. 2016;3(4):350-7.
38. Vasudev K, Choi YH, Norman R, Kim RB, Schwarz UI. Genetic Determinants of Clozapine-Induced Metabolic Side Effects. *Canadian journal of psychiatry Revue canadienne de psychiatrie*. 2017;62(2):138-49.
39. Townsend LK, Pepler WT, Bush ND, Wright DC. Obesity exacerbates the acute metabolic side effects of olanzapine. *Psychoneuroendocrinology*. 2017;88:121-8.
40. Caspi A, Davidson M, Tamminga CA. Treatment-refractory schizophrenia. *Dialogues in clinical neuroscience*. 2004;6(1):61-70. Epub 2004/03/01.
41. Mental. DdS. Tratamiento de personas desde el primer episodio de Esquizofrenia. *Guías Clínicas AUGE*. Junio, 2017:160.

42. Gillespie AL, Samanaite R, Mill J, Egerton A, MacCabe JH. Is treatment-resistant schizophrenia categorically distinct from treatment-responsive schizophrenia? a systematic review. *BMC psychiatry*. 2017;17(1):12. Epub 2017/01/15.
43. Kane J, Honigfeld G, Singer J, Meltzer H. Clozapine for the treatment-resistant schizophrenic. A double-blind comparison with chlorpromazine. *Archives of general psychiatry*. 1988;45(9):789-96. Epub 1988/09/01.
44. Barquero-Madrigal A. Esquizofrenia resistente al tratamiento: ¿hemos tomado una decisión? *Revista chilena de neuro-psiquiatría*. 2017;55:85-92.
45. Lehman AF, Lieberman JA, Dixon LB, McGlashan TH, Miller AL, Perkins DO, et al. Practice guideline for the treatment of patients with schizophrenia, second edition. *The American journal of psychiatry*. 2004;161(2 Suppl):1-56. Epub 2004/03/06.
46. Clinical practice guidelines. Treatment of schizophrenia. *Canadian journal of psychiatry Revue canadienne de psychiatrie*. 2005;50(13 Suppl 1):7S-57S. Epub 2006/03/15.
47. Hasan A, Falkai P, Wobrock T, Lieberman J, Glenthøj B, Gattaz WF, et al. World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) Guidelines for Biological Treatment of Schizophrenia, part 1: update 2012 on the acute treatment of schizophrenia and the management of treatment resistance. *The world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*. 2012;13(5):318-78. Epub 2012/07/28.
48. Griffith RW, Saameli K. Letter: Clozapine and agranulocytosis. *Lancet*. 1975;2(7936):657. Epub 1975/10/04.
49. Lieberman JA, Johns CA, Kane JM, Rai K, Pisciotta AV, Saltz BL, et al. Clozapine-induced agranulocytosis: non-cross-reactivity with other psychotropic drugs. *The Journal of clinical psychiatry*. 1988;49(7):271-7. Epub 1988/07/01.
50. Curry B, Palmer E, Mounce C, Smith G, Shah V. Assessing prescribing practices of clozapine before and after the implementation of an updated risk evaluation and mitigation strategy. *The mental health clinician*. 2018;8(2):63-7. Epub 2018/06/30.
51. Demjaha A, Lappin JM, Stahl D, Patel MX, MacCabe JH, Howes OD, et al. Antipsychotic treatment resistance in first-episode psychosis: prevalence, subtypes and predictors. *Psychological medicine*. 2017;47(11):1981-9.
52. Doyle R, Behan C, O'Keefe D, Masterson S, Kinsella A, Kelly A, et al. Clozapine Use in a Cohort of First-Episode Psychosis. *Journal of clinical psychopharmacology*. 2017;37(5):512-7.
53. Pinheiro DS, Santos RDS, de Brito RB, Cruz A, Ghedini PC, Reis AAS. GSTM1/GSTT1 double-null genotype increases risk of treatment-resistant schizophrenia: A genetic association study in Brazilian patients. *PloS one*. 2017;12(8):e0183812.
54. Shaw G. Polymorphism and single nucleotide polymorphisms (SNPs). *BJU international*. 2013;112(5):664-5.
55. Anttila S, Kampman O, Illi A, Rontu R, Lehtimäki T, Leinonen E. Association between 5-HT2A, TPH1 and GNB3 genotypes and response to typical neuroleptics: a serotonergic approach. *BMC psychiatry*. 2007;7:22.
56. Li J, Meltzer HY. A genetic locus in 7p12.2 associated with treatment resistant schizophrenia. *Schizophrenia research*. 2014;159(2-3):333-9.
57. Terzić T, Kastelic M, Dolzan V, Plesnicar BK. Genetic polymorphisms in dopaminergic system and treatment-resistant schizophrenia. *Psychiatria Danubina*. 2016;28(2):127-31.
58. Saiz Ruiz J, Vega Sánchez DCdl, Sánchez Páez P. Bases Neurobiológicas de la Esquizofrenia. *Clínica y Salud*. 2010;21:235-54.
59. Escamilla R, Camarena B, Saracco-Alvarez R, Fresan A, Hernandez S, Aguilar-Garcia A. Association study between COMT, DRD2, and DRD3 gene variants and antipsychotic treatment

- response in Mexican patients with schizophrenia. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2018;14:2981-7. Epub 2018/11/23.
60. Taylor DL, Tiwari AK, Lieberman JA, Potkin SG, Meltzer HY, Knight J, et al. Pharmacogenetic Analysis of Functional Glutamate System Gene Variants and Clinical Response to Clozapine. *Molecular neuropsychiatry*. 2017;2(4):185-97.
 61. Martínez-Gras IH, J; Pérez-Hernández, E; Rodríguez-Jimenez Caumel R; et al. Sistema endocannabinoide y polimorfismos del gen CNR1 en la esquizofrenia y los trastornos adictivos / Endocannabinoid system and CNR1 gene polymorphisms in schizophrenia and addictive disorders. *Actas Españolas de Psiquiatría*. 2007.
 62. Joëlle Desfossés ESea. *Endocannabinoids and Schizophrenia*. Pharmaceuticals. 2010.
 63. Hamdani N, Tabeze JP, Ramoz N, Ades J, Hamon M, Sarfati Y, et al. The CNR1 gene as a pharmacogenetic factor for antipsychotics rather than a susceptibility gene for schizophrenia. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*. 2008;18(1):34-40. Epub 2007/08/03.
 64. Silva H. *Manual de psicofarmacología clínica*. 2016:272. Mediterranean.
 65. Zhang JP, Malhotra AK. Pharmacogenetics and antipsychotics: therapeutic efficacy and side effects prediction. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*. 2011;7(1):9-37. Epub 2010/12/18.
 66. Lencz T, Robinson DG, Xu K, Ekholm J, Sevy S, Gunduz-Bruce H, et al. DRD2 promoter region variation as a predictor of sustained response to antipsychotic medication in first-episode schizophrenia patients. *The American journal of psychiatry*. 2006;163(3):529-31. Epub 2006/03/04.
 67. Andreou D, Soderman E, Axelsson T, Sedvall GC, Terenius L, Agartz I, et al. Polymorphisms in genes implicated in dopamine, serotonin and noradrenalin metabolism suggest association with cerebrospinal fluid monoamine metabolite concentrations in psychosis. *Behavioral and brain functions : BBF*. 2014;10:26. Epub 2014/07/31.
 68. Miyake N, Thompson J, Skinbjerg M, Abi-Dargham A. Presynaptic dopamine in schizophrenia. *CNS neuroscience & therapeutics*. 2011;17(2):104-9. Epub 2011/01/05.
 69. Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *The American journal of psychiatry*. 1991;148(11):1474-86. Epub 1991/11/01.
 70. Zhu MY, Juorio AV, Paterson IA, Boulton AA. Regulation of aromatic L-amino acid decarboxylase in rat striatal synaptosomes: effects of dopamine receptor agonists and antagonists. *British journal of pharmacology*. 1994;112(1):23-30. Epub 1994/05/01.
 71. Cho S, Neff NH, Hadjiconstantinou M. Regulation of tyrosine hydroxylase and aromatic L-amino acid decarboxylase by dopaminergic drugs. *European journal of pharmacology*. 1997;323(2-3):149-57. Epub 1997/04/04.
 72. Grace AA. Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. *Neuroscience*. 1991;41(1):1-24. Epub 1991/01/01.
 73. Feifel D, Shilling PD, MacDonald K. A Review of Oxytocin's Effects on the Positive, Negative, and Cognitive Domains of Schizophrenia. *Biological psychiatry*. 2016;79(3):222-33. Epub 2015/09/28.
 74. Desfossés J SE, Bentaleb LA, Potvin S. *Endocannabinoids and Schizophrenia*. Pharmaceuticals (Basel). 2010 Oct 8:3101-26.
 75. Gouvêa ES, Santos Filho AF, Ota VK, Mrad V, Gadelha A, Bressan RA, et al. The role of the CNR1 gene in schizophrenia: a systematic review including unpublished data. *Brazilian Journal of Psychiatry*. 2017;39:160-71.

76. Ujike H, Takaki M, Nakata K, Tanaka Y, Takeda T, Kodama M, et al. CNR1, central cannabinoid receptor gene, associated with susceptibility to hebephrenic schizophrenia. *Molecular psychiatry*. 2002;7(5):515-8. Epub 2002/06/26.
77. Ballon N, Leroy S, Roy C, Bourdel MC, Charles-Nicolas A, Krebs MO, et al. (AAT)n repeat in the cannabinoid receptor gene (CNR1): association with cocaine addiction in an African-Caribbean population. *The pharmacogenomics journal*. 2006;6(2):126-30. Epub 2005/11/30.
78. Tiwari AK, Zai CC, Likhodi O, Lisker A, Singh D, Souza RP, et al. A common polymorphism in the cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene is associated with antipsychotic-induced weight gain in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2010;35(6):1315-24. Epub 2010/01/29.
79. Hartman CA, Hopfer CJ, Haberstick B, Rhee SH, Crowley TJ, Corley RP, et al. The association between cannabinoid receptor 1 gene (CNR1) and cannabis dependence symptoms in adolescents and young adults. *Drug and alcohol dependence*. 2009;104(1-2):11-6. Epub 2009/05/16.
80. Bae JS, Kim JY, Park BL, Kim JH, Kim B, Park CS, et al. Genetic association analysis of CNR1 and CNR2 polymorphisms with schizophrenia in a Korean population. *Psychiatric genetics*. 2014;24(5):225-9. Epub 2014/07/12.
81. Shilling PD, Feifel D. Potential of Oxytocin in the Treatment of Schizophrenia. *CNS drugs*. 2016;30(3):193-208. Epub 2016/02/20.
82. Souza RP, de Luca V, Meltzer HY, Lieberman JA, Kennedy JL. Schizophrenia severity and clozapine treatment outcome association with oxytocinergic genes. *The international journal of neuropsychopharmacology*. 2010;13(6):793-8. Epub 2010/03/04.
83. First M SR, Gibbon M, Williams, J. Structured Clinical Interview for DSM-IV-TR Axis I Disorders, Research Version. New York Biometrics Research, New York State Psychiatric Institute. 2002. Non-patient Edition.
84. Fujii D WA, Nathan JH Neurocognition and long-term prediction of quality of life in outpatients with severe and persistent mental illness. *Schizophrenia Research* 69. 2004:67–73.
85. Sánchez R, Mario Alexander I, Pinzón A. Análisis factorial y validación de la versión en español de la escala Brief Psychiatric Rating Scale en Colombia : Trabajo realizado en la Unidad de Salud Mental del Hospital Santa Clara de Bogotá y en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. *Biomédica*. 2005;25:120-8.
86. Guy W. Clinical Global Impressions (CGI) Scale, Modified. *Handbook of Psychiatric Measures (1st ed.)*. Washington, DC: American Psychiatric Association. 2000.
87. Hong EP, Park JW. Sample size and statistical power calculation in genetic association studies. *Genomics & informatics*. 2012;10(2):117-22. Epub 2012/10/30.
88. Galli Silva E, Feijóo Llontop L, Roig Rojas I, Romero Elmore S. Aplicación del "MINI" como orientación diagnóstica psiquiátrica en estudiantes de medicina de la Universidad Peruana Cayetano Heredia: informe preliminar epidemiológico. *Revista Medica Herediana*. 2002;13:19-25.
89. First MB. SCID-I Structured clinical interview for DSM-IV axis I disorders. 1999.
90. Leucht S, Kane JM, Kissling W, Hamann J, Etschel E, Engel RR. What does the PANSS mean? *Schizophrenia research*. 2005;79(2):231-8.
91. Busner J, Targum SD. The clinical global impressions scale: applying a research tool in clinical practice. *Psychiatry*. 2007;4(7):28-37.
92. Leucht S, Rothe P, Davis JM, Engel RR. Equipercntile linking of the BPRS and the PANSS. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*. 2013;23(8):956-9. Epub 2013/02/26.
93. Graffelman J. Exploring Diallelic Genetic Markers: The HardyWeinberg Package. 2015. 2015;64(3):23. Epub 2015-03-20.

94. Pedersen CA, Gibson CM, Rau SW, Salimi K, Smedley KL, Casey RL, et al. Intranasal oxytocin reduces psychotic symptoms and improves Theory of Mind and social perception in schizophrenia. *Schizophrenia research*. 2011;132(1):50-3. Epub 2011/08/16.
95. Schennach R, Zill P, Obermeier M, Hauer D, Dehning S, Cerovecki A, et al. The CNR1 gene in depression and schizophrenia - is there an association with early improvement and response? *Psychiatry research*. 2012;196(1):160. Epub 2012/03/01.
96. Yu W, De Hert M, Moons T, Claes SJ, Correll CU, van Winkel R. CNR1 gene and risk of the metabolic syndrome in patients with schizophrenia. *Journal of clinical psychopharmacology*. 2013;33(2):186-92. Epub 2013/02/21.
97. Abarca M. Identificación de biomarcadores asociados a síntomas psicóticos refractarios en adultos enfermos de Esquizofrenia en Valparaíso. Tesis para optar al Título de Especialista en Psiquiatría Adulto. 2017:1-43.