UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y PSIQUIATRIA

TESIS DOCTORAL

CAMBIOS MORFOLÓGICOS CEREBRALES EN PRIMEROS EPISODIOS DE PSICOSIS NO AFECTIVA: IMPLICACIÓN DE VARIACIONES DE LOS POLIMORFISMOS BDNF, NRG1 Y CNR1

BRAIN MORPHOLOGICAL CHANGES IN FIRST EPISODES OF NON-AFFECTIVE PSYCHOSIS: THE EFFECT OF BDNF, NRG1 AND CNR1 POLYMORPHISM VARIANTS.

Doctorando:

Paula Suárez Pinilla

Director:

Profesor Benedicto Crespo Facorro

A MIS PADRES

La investigación predoctoral llevada a cabo en esta tesis se desarrolló principalmente en el Departamento de Medicina y Psiquiatría de la Facultad de Medicina, en la Universidad de Cantabria entre los años 2012-2015. Los estudios fueron llevados a cabo mayoritariamente en la Unidad de Investigación de Psiquiatría y el Laboratorio de Neuroimagen del Instituto de Investigación Sanitaria Valdecilla (IDIVAL). La investigación no hubiera sido posible sin la financiación del Instituto de Investigación Sanitaria Valdecilla (IDIVAL) a través de un contrato post-MIR Wenceslao López Albo que hizo posible la estancia de un año en centro internacional (Bahn Lab, University of Cambridge).

AGRADECIMIENTOS

Ni este trabajo ni los artículos que lo conforman hubiesen podido completarse sin el esfuerzo y la participación de varias personas, bien por su participación logística, por sus conocimientos o por su influencia en mi persona.

En primer lugar, además de por los conocimientos y valores transmitidos, me gustaría agradecer al director de esta Tesis, Benedicto Crespo Facorro, el haberme ofrecido la oportunidad de continuar formándome en su equipo al finalizar la Residencia de Psiquiatría la confianza que depositó en mí y en mis posibilidades desde el principio. Es y será un orgullo haber trabajado bajo la dirección de este gran médico e investigador.

Gracias también a mis compañeros del grupo PAFIP de Psiquiatría, que siempre se mostraron dispuestos a colaborar y echar una mano en lo que hiciese falta y que, directa o indirectamente, han contribuido enormemente en este trabajo. A los autores que forman parte de las publicaciones, y en especial a Roberto Roiz, Nacho Mata y Paul Guest. Sin lugar a duda, estos artículos no hubiera podido llevarlos a cabo sin su participación. A Roberto le quiero agradecer especialmente su implicación y los conocimientos en análisis estadístico y neuroimagen que ha sabido transmitirme de manera tan clara y que me han sido de enorme utilidad durante este tiempo.

Agradezco al IDIVAL el haber completado mi formación como investigadora, y a todo el personal de los laboratorios y del Biobanco que han contribuido desinteresadamente en mi investigación. Al laboratorio de la Profesora Sabine Bahn, en especial a gente como Jakub o Paul, que supieron ayudarme durante mi estancia en Cambridge.

A mis amigos, personas que tampoco tienen que ver con la ciencia, pero que forman parte de mi vida, especialmente a Silvia R, Sivia G, Magali, Angel, Aure, etc porque estuvieron siempre

pendientes de la evolución de este trabajo. A muchas más personas, algunos anónimos, otros simples conocidos, pero que han sabido estar ahí en determinados momentos clave.

A Keka, por haber creído en mi incluso antes de que yo misma lo hiciera. Por su presencia constante desde el inicio de este trabajo, por su ayuda en temas que van más allá de la Ciencia, pero que también están relacionados y por escucharme pacientemente en momentos en los que no estaba para nada. Sin ella todo sería diferente.

A mi hermana Marta, por su apoyo como hermana y como amiga. Y por su visión científica, a bastantes pasos de la mía y de la mayoría de los mortales, pero que siempre ha estado dispuesta a compartir. He aprendido muchísimo junto a ella. Le agradezco el formar parte y dar sentido a mi vida.

A mis padres, que siempre me han guiado a través de este camino, aún cuando yo no era consciente. A mi padre también por los conocimientos de Estadística que desde la carrera me ha ido inculcando, y a mi madre, por su calma, su forma de relativizar las cosas y su fortaleza. Gracias por vuestro apoyo, comprensión y vuestro cariño, sois los mejores.

INDICE

1. SUMMARY 1
2. INTRODUCCION 5
2.1. Patofisiología de la esquizofrenia 7
2.1.1. Bases genéticas y moleculares 9
2.1.2. Factores ambientales 24
2.2. Repercusiones estructurales en la neuroimagen 25
3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS 31
3.1. Justificación 33
3.2. Hipótesis 33
3.3. Objetivos 34
4. MATERIAL Y METODOS 37
4.1. Ámbito del estudio 39
4.2. Población incluida 39
4.3. Evaluación sociodemográfica y clínica 41
4.4. Adquisición de las imágenes mediante RM 42
4.5. Procesamiento de las imágenes 43
4.6. Análisis de la expresión génica 44
4.7. Análisis estadístico 46
5. RESULTADOS 49
5.1. Resultados publicados 52
5.1.1 Variaciones en el gen BDNF Val66Met y cambios progresivos del volumen cerebral en pacientes con psicosis no afectiva y en voluntarios sanos 52
5.1.2. Cambios progresivos cerebrales y variaciones del gen NRG1 en primeros episodios de psicosis no afectivas. 53
5.1.3. Cambios en la estructura cerebral y en la clínica tras un primer episodio de psicosis: Papel de los polimorfismos del CBR1 55
5.2. Resultados integrados 57
5.2.1. Papel de los polimorfismos BDNF Val66Met, NRG1 (SNP8NRG243177, SNP8NRG221533, SNP8NRG221132) y CNR1 (rs1049353, rs1535255 y rs2023239) en alteraciones de la estructura cerebral en individuos con un primer episodio de psicosis. 57

5.2.2. Influencia de los polimorfismos BDNF Val66Met, NRG1 (SNP8NRG243177, SNP8NRG221533, SNP8NRG221132) y CNR1 (rs1049353, rs1535255 y rs2023239) en cambios progresivos de la estructura cerebral en individuos con un primer episodio de psicosis 58

5.2.3. Papel de los polimorfismos BDNF Val66Met y NRG1 en los volúmenes cerebrales de controles sanos. 59

5.2.4. Efectos de las variaciones en los polimorfismos BDNF Val66Met, NRG1 y CBR1 en la evolución clínica de la psicosis 59

6. PUBLICACIONES 63

7. DISCUSION 93

7.1. Alteraciones morfométricas cerebrales en primeros episodios de psicosis y su relación con polimorfismos de los genes BDNF, NRG1 y CNR1 95

7.2. Polimorfismos de BDNF, NRG1 y CNR1 y su relación con las características clínicas y su progresión en primeros episodios de psicosis 99

7.3. Factores de confusión, limitaciones y fortaleza del estudio 101

7.4. Líneas de mejora y perspectivas 103

8. CONCLUSIONES / CONCLUSIONS 105

9. BIBLIOGRAFIA 111

10. ANEXOS 139

ABREVIATURAS

A:	Adenina
ACPC:	Comisura anterior y comisura posterior
ADCYAP1:	Polipéptido activador de la adenilato ciclasa de la pituitaria tipo 1
AIC:	Información de Akaike
AMI:	Amígdala
AMPA1:	Acido α-amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico 1
ANCOVA:	Análisis de la covarianza
ANOVA:	Análisis de la varianza
BDNF:	Brain Derived Neurotrophic Factor
BPRS:	Brief Psychiatric Rating Scale
C:	Citosina
CASH:	Comprehensive Assessment of Symptoms and History
CGI-S:	Escala de impresión clínica global-gravedad de la enfermedad
CIE:	Clasificación Internacional de las Enfermedades
CLZ:	Clozapina
CNR1:	Receptor cannabinoide 1
COMT:	Cathecol-O-Metil-Transferasa
CP:	Caudado y Putamen
CPF:	Corteza prefrontal
DISC1:	Gen interrumpido en esquizofrenia 1
DP:	Densidad de protones
DRD2:	Receptor de dopamina tipo 2
DSM:	Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales.
DTNBP1:	Proteína 1 de unión a la distrobrevina
DUP:	Duración de psicosis sin tratar
EMT:	Estimulación Magnética Transcraneal
ES:	Esquizofrenia
FOV:	Fiel of view
G:	Guanina
GAD1:	Glutamato descarboxilasa 1
GLM:	Modelo lineal general
GPR18:	Receptor cannabinoide putativo anormal 18

GPR55:	Proteína G de receptores acoplados 55
GRIA1:	Receptor ionotropico de glutamato AMPA 1
GRIN2B:	Receptor ionotropico de glutamato N-metil D-aspartato 2B
GWAS:	Estudios de Asociación del Genoma Completo
HIP:	Hipocampo
HTR2A:	Receptor de serotonina tipo 2A
HWE:	Equilibrio de Hardy-Weinberg
IDIVAL:	Instituto de Investigación Valdecilla
IMC:	Índice de Masa Corporal
IPS:	Células madre pluripotentes
LCR:	Líquido cefalorraquídeo
LD:	Linkage Desequilibrium
MBP:	Proteína básica de mielina
MOBP:	Proteína básica de mielina asociada a oligodendrocitos
NAC:	Núcleo accumbens
NCAM1:	Molécula de adhesión neural 1
NDUFV2:	NADH-ubiquinona-deshidrogenasa flavoproteina-2
NEX:	Número de excitaciones
NRCAM	Molécula de adhesión de células neuronales
NRG1:	Neuregulin
OLA:	Olanzapina
PAFIP:	Programa de Atención de las Fases Iniciales de Psicosis
PCP:	Fenciclidina
PCR:	Reacción en cadena de la polimerasa
PEP:	Primeros episodios de psicosis
RAB18	Miembro de la familia de oncogenes RAS
RELN:	Reelina
RFLP:	Restriction fragment length polymorphism
RM:	Resonancia Magnética
RMN:	Resonancia Magnética Nuclear
SANS:	Escala para la Valoración de los Síntomas Negativos
SAPS:	Escala para la Valoración de los Síntomas Positivos
SB:	Sustancia blanca

SCID:	Escala estructurada de discapacidad de la Organización Mundial de la Salud
SG:	Sustancia gris
SNC:	Sistema nervioso central
SNAP-25	Sintaxina, 25 KDa
SNP:	Polimorfismo de nucleótido único
SPSS:	Software Estadístico para las Ciencias Sociales.
T:	Timina
T1:	Tiempo de relajación longitudinal
T2:	Tiempo de relajación transversal
TCF4:	Factor 4 de la transcripción
TE:	Tiempo de eco
TR:	Tiempo de repetición
TV:	Tegmento ventral
VL:	Ventrículo lateral
VNTRs:	Variable number of tandem repeats

1. SUMMARY

Schizophrenia is a serious mental disorder characterized by a disintegration of thinking processes and emotional responsiveness, predominantly defined by signs of psychosis. The pathogenesis is a multifactorial process resulting from the interplay between genetic predisposition and environmental exposure. This genetic and environmental interaction might lead to a neurodevelopmental dysmaturation and an altered stress response that potentially cause a latent vulnerability to psychosis.

Imaging studies have shown that structural brain anomalies are already present at the early phases of the illness and even before the onset of psychotic symptoms. Whether these brain abnormalities might be static or progress over time is still under debate. Variation in certain genes could partly explain these morphological discrepancies, observed among longitudinal studies following up patients with psychosis. However, it remains unclear whether genes play any role in such structural alterations.

The aim of this work is to study how certain neurodevelopment genes, such as Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF), Neuregulin-1 (NRG1) and Cannabinoid-1 receptor (CNR1) polymorphisms are associated with the changes in the brain observed in patients suffering a first episode of psychosis at the onset and during a three-year follow-up period. When possible, potential relationships with psychopathology evolution are also explored.

We found evidence that NRG1 and CNR1, but not BDNF, are involved in longitudinal neuroimaging changes. Some of these findings corroborate previous studies conducted at the first episode of psychosis, such as the association between NRG1 and the enlargement of lateral ventricles. The findings also suggest that a progressive ventricular elongation and a longitudinal white matter reduction are associated with the NRG1 gene variants.

In regard to the CNR1 gene, some polymorphism variants are associated with a reduction in thalamus and caudate nucleus volumes over the first three years of illness. Moreover, we found potential effects of specific CNR1 variants on body mass index and on the positive and negative symptomatology of schizophrenia.

Taken together, these results highlight the relevance of long-term effects of genetic variations on the pathophysiology of schizophrenia. . We found potential moderating effects of specific CNR1 and NRG1 variants on brain volumes. Also it leads to the identification of new therapeutic targets to improve the treatment of patients suffering from this psychiatric disorder. However, additinal studies using larger independent cohorts are warranted to validate and further define the effects of those gene mutations on schizophrenia susceptibility.

2. INTRODUCCION

2.1. Patofisiología de la esquizofrenia

La esquizofrenia es un trastorno mental grave caracterizado por una desintegración de los procesos de pensamiento y respuesta emocional, definida por un conglomerado de signos y síntomas, siendo especialmente destacados los síntomas de psicosis. En general, puede decirse que la esquizofrenia se caracteriza por síntomas positivos y negativos, siendo estos últimos los más difíciles de reconocer (1). Entendemos por síntomas positivos: ideas delirantes, alucinaciones, comportamiento extraño, catatonia, desorganización del habla y del pensamiento así como despersonalización y/o desrealización. Los síntomas negativos engloban: aplanamiento afectivo, anhedonia, asociabilidad, alogia y apatía. La mayoría de los autores incluyen dentro de los síntomas negativos, los síntomas cognitivos que son en ocasiones muy sutiles y comprenden: falta de concentración, alteraciones en la atención, alteraciones de la función ejecutiva y de la memoria de trabajo, entre otros. Los actuales criterios del Manual Diagnóstico y Estadístico de los trastornos mentales, en su quinta edición (DSM-5)(2), y de la décima Clasificación Internacional de las Enfermedades (CIE-10)(3) requieren, además, que para su diagnostico clínico exista un grado de disfunción sociolaboral respecto a la situación basal del individuo.

Debido a que esta enfermedad comienza en edades tempranas y persiste durante la vida, una de las preguntas principales es si este trastorno debe ser conceptualizado como un trastorno del neurodesarrollo, como un trastorno neurodegenerativo o como una combinación de ambos. Aunque se han propuesto múltiples teorías sobre su origen, la mayoría de los datos señalan hacia el modelo del neurodesarrollo y esta es la hipótesis más apoyada, si bien algunos datos arrojan resultados contradictorios, orientándose hacia una hipótesis neurodegenerativa. El modelo del neurodesarrollo fue propuesto por Weinberger en 1987 (4), y postula que durante el desarrollo temprano y la gestación, en el proceso de formación del

encéfalo, se producen alteraciones en algunos grupos de neuronas y sus conexiones. Estas alteraciones se mantienen silentes hasta que en la adolescencia o inicios de la edad adulta se produce una activación de tales circuitos neurales patológicos, que lleva a la aparición de síntomas psicóticos (5). La patogénesis de la esquizofrenia es una proceso multifactorial que resulta de la interacción entre una predisposición genética y una exposición ambiental (6, 7). Esta compleja interacción ha sido, en parte, explicada con la teoría del "doble impacto" (2- hit) (8, 9). Según esta hipótesis, factores genéticos o ambientales alterarían, en un "primer impacto", el desarrollo inicial del sistema nervioso central (SNC), produciendo una mayor vulnerabilidad a largo plazo a un "segundo impacto", que daría lugar a la aparición de los síntomas de la enfermedad (Figura 1). Por otra parte, el modelo neurodegenerativo propone una progresiva pérdida neuronal. Señala la existencia de un proceso patológico activo asociado al curso de la enfermedad, y más concretamente a los periodos de exacerbación, por neurotoxicidad de la psicosis aguda, lo que explicaría el progresivo deterioro observado en algunos de estos pacientes, sobre todo en los primeros años después del inicio de la enfermedad. Esta teoría se apoya en estudios clínicos y, fundamentalmente, estudios longitudinales de neuroimagen (10). Sin embargo, en el año 2013, Zipursky y colaboradores cuestionaron esta teoría argumentando que un porcentaje importante de individuos logra una recuperación funcional total o parcial al cabo de un tiempo, y sólo en un 25% su evolución es clasificada como mala. Este hecho se opone a lo que normalmente ocurre en las enfermedades neurodegenerativas, donde existe una pérdida progresiva de la funcionalidad del paciente. Los autores también apuntan que la pérdida de volumen cerebral progresiva que algunos estudios de seguimiento muestran puede deberse a efectos tóxicos de la medicación antipsicótica, drogas u a otros factores adyacentes. Por último, comentan que si bien si existe un deterioro cognitivo presente desde el principio de la enfermedad con respecto a las

mismas pruebas cognitivas efectuadas en sujetos sanos, éste permanece prácticamente estable en muchos casos, desde su inicio (11).

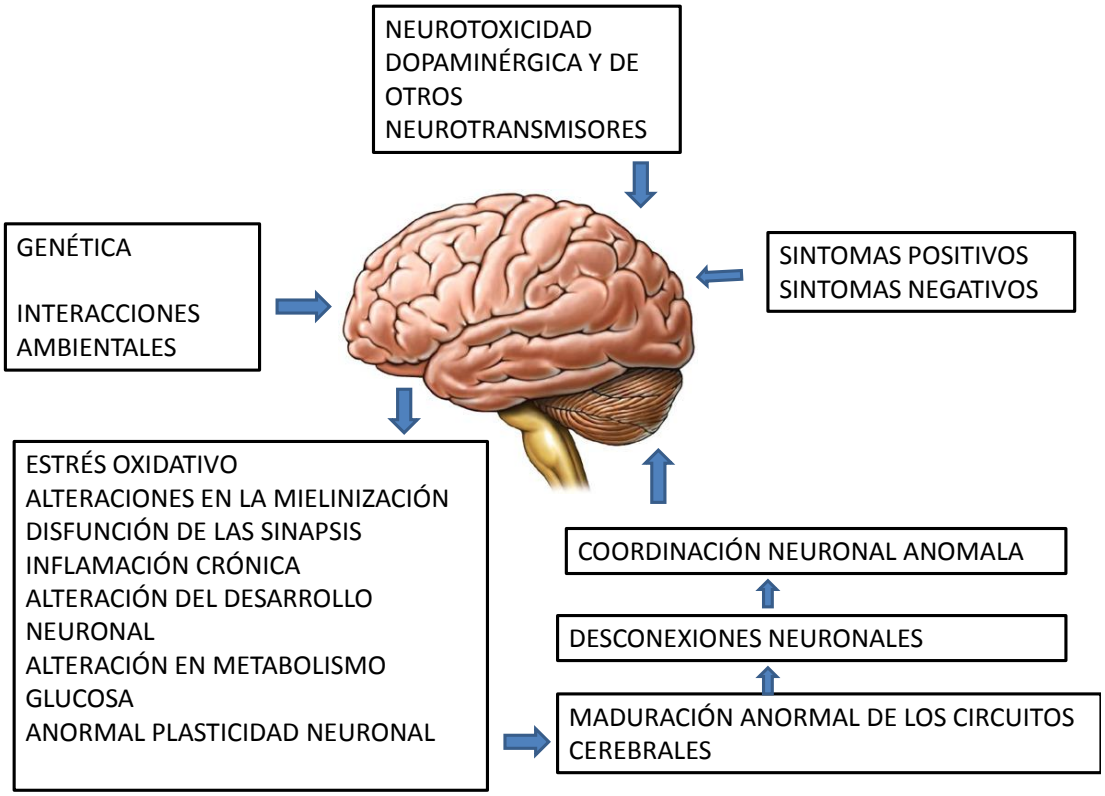


Figura 1. Posibles alteraciones del neurodesarrollo cerebral y su implicación en la esquizofrenia.

2.1.1. Bases genéticas y moleculares

Alteraciones en la neurotransmisión

Las bases moleculares de la esquizofrenia se sustentan en un déficit de funcionamiento de ciertos procesos neuronales. Las hipótesis fisiopatológicas de la esquizofrenia plantean como tesis que determinadas alteraciones neuroanatómicas y neuroquímicas inherentes a la neurotransmisión podrían influir en el metabolismo cerebral y causar la sintomatología de la

enfermedad. Al tratarse de una enfermedad tan compleja, es difícil pensar que la alteración en un solo sistema o neurotransmisor es suficiente para su desarrollo. Lo que parece ser cierto es que la esquizofrenia no se debe sólo a una alteración limitada a una única región cerebral, sino que se debe a un problema de conexiones entre distintas áreas del cerebro (12).

La dopamina es uno de los neurotransmisores afectados en la enfermedad de la esquizofrenia. Durante muchos años, la hipótesis dopaminérgica era la más aceptada, y aún en la actualidad es la teoría neuroquímica predominante. Esta catecolamina ha sido implicada en la fisiopatología de la esquizofrenia a través de un aumento de su acción en el sistema mesolímbico. Estudios funcionales muestran anormalidades en la función dopaminérgica presináptica. Existen evidencias experimentales en esta dirección ya que: a) individuos sanos que ingieren grandes dosis de anfetaminas, que favorecen la liberación de dopamina a nivel presináptico pueden experimentar delirios y alucinaciones auditivas; b) dosis más pequeñas de anfetaminas pueden empeorar la sintomatología psicótica en pacientes con esquizofrenia; c) los fármacos antipsicóticos típicos pueden producir efectos secundarios de extrapiramidalismo al bloquear la neurotransmisión dopaminérgica en la sustancia negra mesencefálica, al tiempo que se ha observado que la eficacia antipsicótica se correlaciona muy directamente con su capacidad bloqueante de la neurotransmisión dopaminérgica; d) antagonistas dopaminérgicos son capaces de reducir la sintomatología positiva de la esquizofrenia; y, e) se ha observado por métodos farmacológicos y fisiológicos que existe una influencia de la neurotransmisión dopaminérgica en el procesamiento de las redes corticales de la corteza prefrontal (13-15). Los receptores dopaminérgicos se agrupan en dos familias: D1 y D2, por una parte la familia D1 está constituida por los receptores de dopamina D1 y D5, mientras que los receptores D2, D3 y D4 están dentro de la familia D2. Una hipofunción de los receptores D1 en la corteza prefrontal contribuye a la sintomatología negativa y a las

alteraciones cognitivas de la esquizofrenia (16). Por el contrario, una hiperactividad de los receptores D2 a nivel subcortical contribuye a la aparición de la sintomatología positiva, y por ello, la eficacia de medicamentos antipsicóticos se basa en gran medida en su capacidad para bloquear los receptores de la familia D2 (17-19). Sin embargo, esto es discutible parcialmente, puesto que los fármacos antipsicóticos típicos, que sólamente bloqueaban los receptores dopaminérgicos, no producían una remisión total de la compleja sintomatología de esta enfermedad. Además estos fármacos son mucho menos exitosos en el control de la sintomatología negativa o de las alteraciones cognitivas, como es el caso del déficit de memoria

La hipótesis de la existencia de una hipofunción de los receptores glutamatérgicos NMDA (según las siglas inglesas de N-metil-D-ácido aspártico), especialmente en corteza prefrontal, hipocampo y tálamo, ha intentado las dificultades experimentales de la hipótesis dopaminérgica. Esta hipótesis glutamatérgica de la esquizofrenia se basa, entre otros, en los siguientes hallazgos experimentales: a) la ketamina y la fenciclidina, antagonistas de los receptores NMDA, pueden inducir un estado que es indistinguible de la esquizofrenia, presentando una sintomatología positiva y negativa; b) estos efectos psicóticos de los fármacos antes referidos pueden ser tratados efectivamente con haloperidol, un potente antipsicótico (20); c) la administración de ketamina se asocia con un aumento del recambio de glutamato, de forma particular en la corteza cingular anterior y con una pérdida de interneuronas gabaérgicas en el hipocampo y en el tálamo. Estos cambios pueden ser reversibles con tratamientos antipsicóticos. Sin embargo, los intentos terapéuticos de modificar el sistema glutamatérgico en la esquizofrenia se han visto acompañados de resultados poco convincentes, probablemente ligados también a las posibles interacciones con el sistema dopaminérgico (21, 22).

Tiempo después se observó que los receptores serotoninérgicos 5-HT juegan un papel importante en la fisiopatología de la enfermedad. En investigaciones basadas en cerebros post-mortem de pacientes con esquizofrenia, la densidad de los receptores 5-$HT2_A$ en la corteza prefrontal es menor y una mayor presencia de receptores $5HT1_A$ (23). Esto atribuye algunos síntomas a un estado hiperserotoninérgico. Por ello, algunos tratamientos antipsicóticos bloquean tanto receptores dopaminérgicos como serotoninérgicos, modulando la actividad del sistema (24).

Implicación genética

La esquizofrenia es una enfermedad genéticamente heterogénea, donde genes diferentes favorecen al mismo fenotipo en diferentes familias y poblaciones, lo que parece soportar de nuevo la influencia ambiental en la génesis del trastorno (16). El modelo de trasmisión genética de la esquizofrenia es desconocido puesto que se trata de una herencia no mendeliana (25). Se estima que su heredabilidad es del 80% (26).

Históricamente, el papel de los factores genéticos en la etiología de la esquizofrenia fue estudiado en cohortes de hermanos gemelos por Gottesman a finales de los años 80, con una tasa de concordancia para la enfermedad de más del 50% (27). Sin embargo, en estudios posteriores otros autores encontraron tasas de concordancia menores, del 30-40%, en hermanos monocigotos (28).

Muchos de los resultados de estudios etiológicos de la enfermedad en principio no proporcionaron resultados consistentes, pero la caracterización de algunos genes candidatos y estudios de mapeo permiten resultados más significativos y sólidos. El abordaje a las bases genéticas de la esquizofrenia puede realizarse a través de varias aproximaciones, siendo el estudio de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) una de las fuentes más sencillas y asequibles y en la más nos centraremos en adelante puesto que el trabajo que se presenta en

esta tesis está realizado en base a ellos. Sin embargo, al tratarse de una herencia poligenética aún desconocida, una aproximación más precisa para su estudio podría ser a través de Estudios de Asociación del Genoma Completo (GWAS) que se basa en el desequilibrio de ligamiento (Linkage Desequilibrium, LD) entre la asociación existente entre alelos de dos o más SNPs. El desequilibrio de ligamento-LD, en el contexto de GWAS, hace referencia a la asociación de uno o más SNP con el fenotipo clínico de la enfermedad. Resultados de GWAS y estudios epidemiológicos describen un modelo poligénico de la esquizofrenia Esto es que gran cantidad de loci presentes en el genoma humano, con efecto individual no significativo e incluso imperceptible, en conjunto maximizan el riesgo de padecer la enfermedad de manera significativa, lo que en últimas explica una parte importante de la heredabilidad de la esquizofrenia (29).

Gen: constitución

Para un gen en el cual la región promotora no ha sido caracterizada completamente, se propone que se considere el inicio del gen al menos 3 Kb previas al sitio de inicio de la transcripción. Si se conocen secuencias reguladoras en el extremo 5', entonces el final de esa región 5' será la que se define como el inicio. La mayoría de los sitios 5' de iniciación de la transcripción se utilizan para iniciar la numeración de los nucleótidos de un gen. La siguiente base para iniciar la numeración en dirección 5' tiene la numeración –1. Si los estudios de iniciación de la transcripción todavía no se han completado, se utiliza la adenina (A) del codón de inicio "ATG" del transcrito del gen dándole numeración +1(30). Aunque todavía sabemos poco sobre la transcripción en eucariotas, parece razonable que 150 pares de bases en dirección 3' del último exón, sean suficientes para incluirlas dentro del gen (31).

Concepto de mutaciones genéticas y polimorfismos

Se conoce como mutación a cualquier cambio en la secuencia del DNA. Una mutación que aparece en el genoma puede ser funcional o no. Si es funcional, puede ser benigna, maligna o neutra.

En los estudios de epidemiología molecular, se acepta arbitrariamente que un polimorfismo genético es una mutación presente en una población con una frecuencia igual o superior a un 1% (32). En los últimos años se han identificado un gran número de mutaciones que afectan a una sóla base nitrogenada (single nucleotid polymorphism, SNP). Los SNPs son polimorfismos de dos alelos y constituyen la variación genética más común e informativa del genoma humano puesto que tienen altas frecuencias alélicas. Su tasa de mutación es de 10^{-7}. Están presentes en la mayoría de los genes y presentan una frecuencia diferente entre distintas poblaciones y etnias. Los SNP no cambian mucho de una generación a otra, y por ello es sencillo seguir su evolución en estudios de poblaciones. Además, es un marcador muy frecuente en los genomas. Por ello, son marcadores genéticos de gran utilidad en investigación médica y otras pruebas genéticas como detección de genes de resistencia, identificación individual, asignación racial, etc. En el caso de la población humana, los SNP forman hasta el 90% de todas las variaciones genómicas y aparecen de promedio, cada 100 a 300 bases a lo largo del genoma humano. Estas variaciones en la secuencia del ADN pueden afectar a la respuesta de los individuos a enfermedades, bacterias, virus, productos químicos, fármacos, etc. Su estudio constituye una fuente asequible de aproximación a las bases genéticas de la esquizofrenia, pero así mismo tiene también un importante número de limitaciones que se detallarán más adelante.

Como ya se ha comentado, la gran mayoría de los SNPs no tienen por si mismos consecuencias funcionales y/o patogénicas pero pueden dar lugar una diferente

susceptibilidad a enfermedades o influir en la evolución de las mimas. Estos SNPs representan la causa más frecuente de polimorfismos, si bien también pueden darse inserciones, delecciones o duplicaciones del gen (33). En ocasiones, el cambio en la secuencia de nucleótidos puede generar o eliminar un sitio donde puede actuar un enzima de restricción. Este tipo de polimorfismo se ha referido como "restriction fragment length polymorphism (RFLP)"(32). Otro tipo de polimorfismos genéticos son el resultado de la inserción o delección de una sección de DNA. El más común de dichos polimorfismos es la existencia de un número variable de repeticiones de un patrón de bases o nucleótidos en una determinada región. La repetición de varios centenares de pares de bases recibe el nombre de "variable number of tandem repeats (VNTRs)" o minisatélites.

Tipos de SNPs y funcionalidad

Los SNPs pueden clasificarse en tres grupos (34):

1) Los SNPs de regiones codificantes (cSNPs): son aquellos que alteran la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada. Cuando esta alteración de lugar a una consecuencia visible y diferencial en el fenotipo, diremos que es un polimorfismo funcional (35).

2) Los SNPs perigénicos (pSNPS) están localizados dentro o en la región circundante de los genes. Estos incluyen mutaciones en todos los intrones, mutaciones silenciosas en el codón y cambios en regiones no codificantes del mRNA, la región 5' flanqueante (desde la zona 5' promotora, que es funcional, hasta el lugar del inicio de la transcripción), y al menos 150 pares de bases por detrás del último exón. El ADN no codificante adyacente a regiones codificantes, parece ser también funcional en un grado significativo. Por tanto vemos que no sólo los cambios en las secuencias codificantes van a provocar cambios funcionales sino que algunos pSNPs tendrán también un gran impacto en el fenotipo, como ocurre en los procesos

evolutivos (36). Los cambios en SNPs en regiones intronicas (reguladoras) pueden ser tan importantes como los SNPs en exones (codificantes).

3) Los SNPs intergénicos (iSNPs) localizados entre gen y gen a lo largo del genoma ("junk DNA"), son el resultado de sitios erróneos casuales y estos configurarán el resto de 2 a 29 millones de SNPs existentes a lo largo del genoma humano.

Las recientes predicciones de aproximadamente 142,600 genes en el genoma humano, aumentarían las predicciones estimadas de a siete millones de SNPs con una frecuencia superior al 0.05, y 10 millones de SNPs con una frecuencia superior al 0.01, además de las variantes raras, aunque las frecuencias varían según poblaciones (37) . Sin embargo, el número de SNPs significativamente funcionales es mucho más pequeño. Hay que remarcar que la mayoría de las variantes alélicas hasta la fecha se han encontrado en regiones codificantes, y esto es así porque esta es la parte de ADN que, como es lógico, se ha estudiado de forma más exhaustiva.

Relación genotipo-fenotipo

En relación al genotipo que presenta un SNP hay dos maneras de demostrar su relación con el fenotipo: 1) mutagénesis dirigida y caracterización de la proteína alterada; y 2) asociación estadística.

El primer método es sencillo, utilizando ensayos de expresión del cSNP, combinados con mutagénesis dirigida; por ejemplo este tipo de ensayo puede utilizarse para determinar la actividad enzimática, la afinidad por el receptor u otra función de la proteína, tasas de formación de metabolito del fármaco, etc. También pueden utilizarse sistemas combinados de transcripción-traducción in vitro. Esta aproximación suele ser útil para demostrar la presencia o la ausencia de un cambio funcional codificado por un cSNP, pero raramente para

un cambio funcional por un pSNP. Hay que subrayar que probablemente más de la mitad de los cSNPs, que presentan un cambio en la secuencia de aminoácidos, no afectarán la funcionalidad del producto génico.

Por otro lado, para los pSNPs, con la posible excepción de las mutaciones en los lugares de "splicing" (por ejemplo en el intrón y causando un producto erróneo de "splicing"), el método de mutagenesis y caracterización dirigida no será tan sencillo. Cualquier candidato a un polimorfismo pSNP requerirá cálculos complejos, por ejemplo, demostrar la asociación con otro cambio de un nucleótido distante, de la proximidad del gen defectivo en desequilibrio de ligamiento o de una apreciación de cada estructura genética individual (38) . En la mayoría de casos, las pruebas para demostrar la asociación entre un pSNP y un fenotipo inequívoco requerirán el estudio de grandes poblaciones de alelos (35, 39).

Principales genes candidatos para la esquizofrenia

La falta de integración existente en la esquizofrenia entre estudios funcionales y genéticos, y entre estudios en modelos animales y humanos complica la generalización sobre los conocimientos biológicos de esta enfermedad.

El gen que codifica la enzima Cathecol-O-Metil-Transferasa (COMT) está directamente implicado en el catabolismo de la dopamina, especialmente a nivel prefrontal, fue inicialmente postulado como uno de los principales genes candidatos para la esquizofrenia (40, 41). En concreto, alteraciones en uno de sus polimorfismos funcionales, el rs4680, o Val158Met, asociados al consumo de cannabis premórbido, fueron relacionadas con un inicio más temprano del primer episodio de psicosis (42). Otro gen relacionado con la esquizofrenia y el consumo de cannabis es el que codifica para AKT1, una protein-quinasa implicada en el estrés, la regulación del ciclo celular y la apoptosis (43).

Investigaciones de integración de los estudios del genoma sobre datos convergentes (convergent functinal genomics, CFG) desarrollados durante la última década, junto con biomarcadores para psicosis, bases de datos de GWAS en esquizofrenia, expresión de genes en sangre y en cerebros humanos postmortem, así como evidencia genética en modelos animales, determinó 22 genes candidatos para el trastorno: gen interrumpido en esquizofrenia 1(DISC1), factor 4 de la transcripción (TCF4), proteína básica de mielina (MBP), proteína básica de mielina asociada a oligodendrocitos (MOBP), molécula de adhesión neural 1 (NCAM1), molécula de adhesión de células neuronales (NRCAM), NADH-ubiquinona-deshidrogenasa flavoproteina-2 (NDUFV2), miembro de la familia de oncogenes RAS (RAB18), además del polipéptodo activador de la adenilato ciclasa de la pituitaria tipo 1 (ADCYAP1), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), receptor de cannabinoides tipo 1 (CNR1), cathecol-o-metil-transferasa (COMT), receptor de dopamina tipo 2 (DRD2), proteína 1 de unión a la distrobrevina (DTNBP1), glutamato descarboxilasa 1 (GAD1), receptor ionotropico de glutamato AMPA 1 (GRIA1), receptor ionotropico de glutamato N-metil D-aspartato 2B (GRIN2B), receptor de serotonina tipo 2A (HTR2A), Neuregulina 1 (NRG1), reelina (RELN), sintaxina, 25 KDa (SNAP-25) y la quinasa TNIK (44) (Tabla 1)

Tabla 1. Principales genes candidatos para esquizofrenia.

Gen	Evidencia genética en modelo animal	Evidencia de expresión genética en cerebro animal	Evidencia expresión genética sanguínea animal	Evidencia genética en ES humanos	Evidencia de expresión genética en cerebro humano	Evidencia de expresión genética en sangre o tejidos periféricos en ES humanos
DISC1	ES (45-54)	↑: tratamiento antipsicótico (55), desarrollo en ratones (56). ↓: PCP HIP, CLZ TV (57)		1q42.2 (58-66)	↑: ES HIP (67)	↑: PBMC, linfoblastos (67, 68)
MBP		↑: PCP y CLZ AMI, ES (69). ↓: PCP CPF(57), ES (70)	↑: PCP y CLZ	18q23 (71)	↓: ES (72)	↓: sangre periférica (73)

Gen	Evidencia genética en modelo animal	Evidencia de expresión genética en cerebro animal	Evidencia expresión genética sanguínea animal	Evidencia genética en ES humanos	Evidencia de expresión genética en cerebro humano	Evidencia de expresión genética en sangre o tejidos periféricos en ES humanos
TCF4	ES (74)	↑: PCP NAC (57)		18q21.2 (75-78)	↑: ES (79)	↑: neuronas derivadas IPS (80) ↓: delirios (81)
MOBP		↑: PCP y CLZ AMI, CLZ NAC, psicosis aguda (82), respuesta a antipsicóticos (83) ↓: ES(84), CLZ CP, CL TV (57), PCP CPF	↑: CLZ	3p22.1(85)	↑: ES y abuso de sustancias (86) ↓: ES (72)	↓: linfocitos (87)
NCAM1	ES (88)	↑: ES (69)		11q23.2 (89)	↑: ES (89, 90)	↑: neuronas derivadas IPS (80)
NDUFV2		Respuesta a antipsicóticos (91)	↓: PCP y CLZ	18p11.22 (92)	↑: ES corteza parieto-occipital(80, 93), ES(94) ↓: ES estriado (95)	↑: linfocitos (95)
NRCAM	ES (96)	↑: CLZ TV(57)		7q31.1(97)	↓: ES (98)	↓: serum (99)
RAB18		↑: PCP AMI. ↓: PCP CPF y CLZ TV (57)	↑: PCP	10p12.1 (100-104)	↓: ES (105)	↓: sangre total (106)
ADCYAP1	ES (107)	↑: CLZ NAC. ↓: CLZ TV (57)		18p11.32 (107, 108)	↓: ES (105)	
BDNF		↑: ES (109-111), PCP en ratas (112), MK-801 en ratas (113)		11p14.1 (114-117)	↓: ES (118, 119)	↓: serum (99, 120-122)
CNR1	ES (123)	↓: PCP y CLZ TV (57), respuesta a antipsicóticos (83)		6q15 (124, 125)	↓: ES (126)	
COMT	ES (127, 128)	↑: CLZ TV(57) ↓: ES (129)		22q11.21 (130)	↑: ES (131)	
DRD2		↓: PCP y CLZ TV (57), ES (132)		11q23.2 (133, 134)	↓: ES(135, 136)	↑: delirios (81)
DTNBP1	ES (137-140)			6p22.3 (141-146)	↓: ES (147-150)	↓: linfocitos (151)
GAD1		↑: PCP AMI(57), ES(152). ↓: ES (109, 111)	↑: CLZ	2q31.1(153)	↑: ES (154). ↓: ES (104, 107), (155-165)	
GRIA1	ES (166)	↑: respuesta a antipsicóticos(83) ↓: PCP y CLZ AMI(57), respuesta a PCP(167)		5q33.2 (168, 169)	↑: ES (156, 170, 171) ↓: ES (172, 173)	
GRIN2B	ES	↑: CLZ TV(57). ↓: CLZ AMI(57), respuesta a antipsicóticos (83)		12p13.1 (133, 145)	↑: ES(174). ↓: ES(173).	
HTR2A		↑: respuesta a antipsicóticos, ES(132), CLZ TV (57) ↓: ES (175)		13q14.3 (133, 134)	↓: ES (118, 176, 177)	↓: linfocitos (178)
NRG1	ES (78, 179, 180)			8p12(64, 78, 134, 181-183)	↑: ES (184-186). ↓: ES (72, 187-189)	↑: neuronas derivadas IPS(80), leucocitos (190), linfocitos (191), delirios (81)

Gen	Evidencia genética en modelo animal	Evidencia de expresión genética en cerebro animal	Evidencia expresión genética sanguínea animal	Evidencia genética en ES humanos	Evidencia de expresión genética en cerebro humano	Evidencia de expresión genética en sangre o tejidos periféricos en ES humanos
RELN	ES (192)	↑: CLZ CPF. ↓: PCP y CLZ TV(57), ES (111, 193)		7q22.1 (64, 133, 182, 194-197)	↓: ES (118, 160, 161, 164, 198, 199)	
SNAP25	ES (200)	↑: ES (109, 201)		20p12.2 (202)	↑: ES (156, 203, 204) ↓: ES (156, 205-208)	
TNIK quinasa		↑: CLZ TV (57)		3q26.31 (59, 181, 209, 210)	↑: ES (205)	↓: líneas celulares linfoblastoides (211)

Adaptada de M Ayalew et al. Convergent functional genomics of schizophrenia: from comprehensive understanding to genetic risk prediction. Molecular Psychiatry (2012) 17, 887-90. Abreviaturas: ADCYAP1: polipéptido activador de la adenilato ciclasa de la pituitaria tipo 1 ; AMI: Amigdala; BDNF : factor neurotrófico derivado del cerebro; CLZ: clozapina; CNR1: receptor de cannabinoides tipo 1; COMT: cathecol-o-metil-transferasa ; CP: caudado y putamen; CPF: corteza prefrontal; DISC1: interrumpido en esquizofrenia 1; DRD2: receptor de dopamina tipo 2 ; DTNBP1: proteína 1 de unión a la distrobrevina ; ES: esquizofrenia; GAD1: glutamato descarboxilasa 1; GRIA1: receptor ionotropico de glutamato AMPA 1; GRIN2B: receptor ionotropico de glutamato N-metil D-aspartato 2B; HIP: hipocampo; HTR2A : receptor de serotonina tipo 2A ; IPS: células madre pluripotentes; MBP: proteína básica de mielina, MOBP: proteína básica de mielina asociada a oligodendrocitos; NAC: núcleo accumbens; NCAM1: molécula de adhesión neural 1; NDUFV2: NADH-ubiquinona-deshidrogenasa flavoproteina-2; NRCAM: molécula de adhesión de células neuronales; NRG1: Neuregulina 1; RAB18: miembro de la familia de oncogenes RAS; PCP: Fenciclidina; RELN: Reelina; SNAP-25: sintaxina, 25 KDa; TCF4: factor 4 de la transcripción; TV: Tegmento ventral.

A continuación se describirán tres de los genes candidatos (BDNF, NRG1 y CNR1), implicados en el neurodesarrollo, y sus distintos SNPs que han sido usados para el presente trabajo.

- ***Gen BDNF***

La proteína codificada por el gen BDNF es una neurotrofina que se encuentra involucrada en la neurogénesis adulta, la neuroplasticidad, la neurotransmisión, el aprendizaje, la respuesta al estrés y el estado de ánimo (212, 213). En concreto, esta proteína está implicada en el desarrollo de neuronas dopaminérgicas mesolímbicas(214), y en la modulación de la dopamina, el glutamato y la serotonina (215), tres de las principales moléculas alteradas en la esquizofrenia Uno de sus principales SNPs, el Val66Met (rs6265), consiste en una sustitución de valina a metionina en el codón 66 (216) e influye en la función y estructura cerebral (217-219).

Varios estudios han relacionado las variaciones en el genotipo BDNF Val66Met y trastornos neuropsiquiátricos como el trastorno bipolar, el trastorno de estrés post-traumático, y la enfermedad de Alzheimer (220, 221). Este SNP también se ha propuesto como un factor de riesgo para la esquizofrenia, pero todavía no se ha establecido una asociación consistente entre el polimorfismo Val66Met y la misma (222). Han surgido resultados contradictorios a través de la revisión de la literatura, y un meta-análisis concluyó que el gen BDNF no se asocia significativamente con esquizofrenia (223). Pese a todo, otros autores ha demostrado que este polimorfismo desempeña un papel importante en la plasticidad estructural y funcional en la esquizofrenia (224).

- ***Gen NRG1***

Diversos polimorfismos del gen NRG1 se han propuesto como factores de riesgo de varios trastornos psiquiátricos, como la ansiedad, el trastorno bipolar y la esquizofrenia (225-228). Algunos autores han proporcionado importantes niveles de soporte para el polimorfismo

NRG1, SNP8NRG221533, como un factor de susceptibilidad para las principales formas de psicosis, como la esquizofrenia y el trastorno bipolar (229). Sin embargo, un meta-análisis centrado en este SNP, no encontró asociación con el desarrollo de esquizofrenia (230).

El gen NRG1 se localiza en el cromosoma 8p12-21. Las proteínas y el RNAm del gen NRG1 se detectan en neuronas de muchas áreas de desarrollo y del cerebro adulto en humanos y son ligandos para los receptores de tirosin-quinasas ErbB (189). Estas proteínas regulan muchas funciones importantes en el sistema nervioso, incluyendo la mielinización, la expresión del receptor del neurotransmisor, la migración de las células neuronales, la diferenciación glial y la formación de sinapsis (231, 232).

- ***Gen CNR1***

El sistema endocannabinoide se ha implicado en las funciones cerebrales asociadas con la neurogénesis, la plasticidad sináptica y la neuroprotección (233) , así como en acciones periféricas, tales como las funciones inmunológicas y metabólicas (234). Los receptores cannabinoides y sus ligandos son parte del sistema endocannabinoide. Los dos receptores cannabinoides CB1 y CB2 más estudiados y caracterizados son Go-receptores acoplados a proteínas Gi, que se encuentran en el cerebro y en los tejidos periféricos. Otros receptores de cannabinoides candidatos son: el receptor cannabinoide putativo anormal 18 (GPR18), la proteína G de receptores acoplados 55 (GPR55), PPARs y el receptor vaniloide TRPV1(235). Los receptores CB1 están localizados principalmente en el SNC pero también están presentes en la periferia. Por otro lado, los receptores CB2 son predominantes en los tejidos periféricos, pero también se han encontrado en el cerebro (236, 237).

El receptor CB1 está codificada por el gen CNR1, localizado en el cromosoma 6 (6q14-15), una región comprobada de asociación con la esquizofrenia (85). Algunos SNPs en este gen se han asociado con efectos centrales del sistema endocannabinoide (238, 239) y con ciertos

trastornos características neuropsiquiátricos, como la dependencia de sustancias (240-242), disquinesia tardía (243) la impulsividad (244), la psicosis y trastornos relacionados (126, 245, 246), la depresión (247, 248) y la respuesta a antidepresivos (247, 249). Con respecto a la esquizofrenia, los resultados son dispares. Algunos estudios no han revelado una asociación significativa entre la enfermedad y las mutaciones genéticas CNR1 (250, 251), mientras que otros han sugerido que las diferencias en el gen están asociadas a la esquizofrenia, independiente de abuso de sustancias (252). Otro estudio genético ha asociado los polimorfismos CNR1 con la predisposición a un subtipo de la esquizofrenia hebefrénica (124).

Además, el CNR1 es un gen candidato para trastornos metabólicos tales como la obesidad, la hipercolesterolemia y la resistencia a la insulina (253, 254). Por lo tanto, irregularidades en la expresión del receptor CB1 pueden tener influencia tanto en la liberación de neurotransmisores (255, 256) y las funciones metabólicas (257).

Bajo condiciones inflamatorias, el mRNA del gen CNR1 ha demostrado estar sobre-expresado en múltiples regiones del cerebro (258). Este efecto puede estar relacionado con la teoría inflamatoria de la esquizofrenia, que propone que la inflamación del cerebro durante periodos prenatales, neonatalesy/opuberales puede estar implicada en el desarrollo posterior de los trastornos relacionados con la psicosis (259, 260). En consonancia con esto, algunos estudios han sugerido que la exposición al cannabis durante una etapa vulnerable se asocia con un riesgo aumentado de dos veces mayor de desarrollar síntomas psicóticos o una enfermedad psicótica en años posteriores (261). (Este punto vuelve a explicarse en el apartado de factores ambientales)

Limitaciones del trabajo con SNPs aislados

Como ya se ha referido anteriormente, el hecho de trabajar con SNPs de forma aislada tiene una serie de limitaciones, especialmente en una enfermedad poligenética como la

esquizofrenia. Los análisis con un solo SNP simplemente detectan una pequeña variación genética y no tienen suficiente poder para identificar asociaciones débiles (262). Además, los diferentes genes pueden interactuar entre sí formando una compleja red de interacciones genéticas, que no pueden ser caracterizadas por el análisis de un único SNP, lo que puede subestimar el tamaño del efecto para las enfermedades poligeneticas (263). Es por ello por lo que muchos autores prefieren investigar el tamaño del efecto para una enfermedad analizando simultáneamente múltiples SNPs. (264)

2.1.2. Factores ambientales

El hecho de que los gemelos monocigotos no presenten una concordancia del 100% para la esquizofrenia, indica que los genes no son determinantes sino que ejercen un papel de susceptibilidad, más que de causalidad directa. Existe evidencia de que algunos factores ambientales y antecedentes estresantes en la infancia o juventud pueden potenciar la contribución de los factores genéticos en el desarrollo de psicosis (265). Entre estos factores no genéticos relacionados con la enfermedad destacan: el consumo de cannabis, el medio urbano, la pertenencia a minorías o sufrir discriminación y traumas en la niñez o la adolescencia temprana (266). Así mismo, ciertas complicaciones prenatales o perinatales como hemorragias periventriculares, hipoxia y traumatismos isquémicos parecen aumentar las tasas de incidencia de la enfermedad (267). La infección por Toxoplasma gondii y virus influenza o rubeola durante el embarazo y la maternidad tardía también son factores de riesgo no genéticos para la esquizofrenia (268). De hecho, determinados estudios poblacionales basados en el hemisferio norte encontraron entre un 5 y 15 % de exceso de esquizofrenia en aquellos nacimientos que se producían entre enero y marzo (269, 270). Esta diferencia podría ser atribuida a mayores tasas de infecciones por influenza durante el periodo invernal. Además, se ha demostrado que la infección durante el embarazo y la

exposición a los cannabinoides en la adolescencia podría tener un efecto sinérgico nocivo sobre la integridad del sistema cerebral serotoninérgico, implicado en la génesis de la enfermedad (271).

2.2. Repercusiones estructurales en la neuroimagen

Descripciones clínicas de la esquizofrenia en el siglo XIX ya señalaban que se podía tratar de una enfermedad cerebral (272). Sin embargo, no hubo una clara evidencia de ello hasta finales del siglo XX, con la llegada de modernas técnicas de neuroimagen (273). Desde entonces, un gran número de evidencia científica ha demostrado que existen anomalías estructurales, metabólicas, bioquímicas y funcionales en el cerebro de pacientes con esquizofrenia. La imagen por Resonancia Magnética (RM) estructural ofrece la oportunidad de examinar estas cuestiones utilizando medidas cuantitativas del tejido cerebral.

No existen patrones neuropatológicos que desde el punto de vista macroscópico sean observables de forma sistemática en estos enfermos. Esto plantea un gran problema para un análisis fisiopatólogico certero en este punto. Sin embargo, también podemos decir que existen estudios que confirman que el volumen ventricular está con frecuencia agrandado y que el volumen cortical disminuido. Es claro que estos rasgos morfológicos no parecen representar un problema focal, aunque también existe cierta unanimidad en que la perdida volumétrica en la corteza cerebral, tiene cierta preferencia por la hipocampal y la prefrontal

Las anomalías en la estructura cerebral existen desde las primeras fases de la psicosis e incluso antes del inicio de los síntomas, como demuestran algunos estudios basados en sujetos de alto riesgo para la enfermedad (274-276). Las alteraciones que predominan con mayor frecuencia en individuos con esquizofrenia son: dilatación de los ventrículos laterales del cerebro (VL) (Figura 2) y disminución del volumen cerebral total (276-278). También se

han observado anomalías en la sustancia gris (SG) en sujetos que sufren un primer episodio de psicosis (279, 280) .

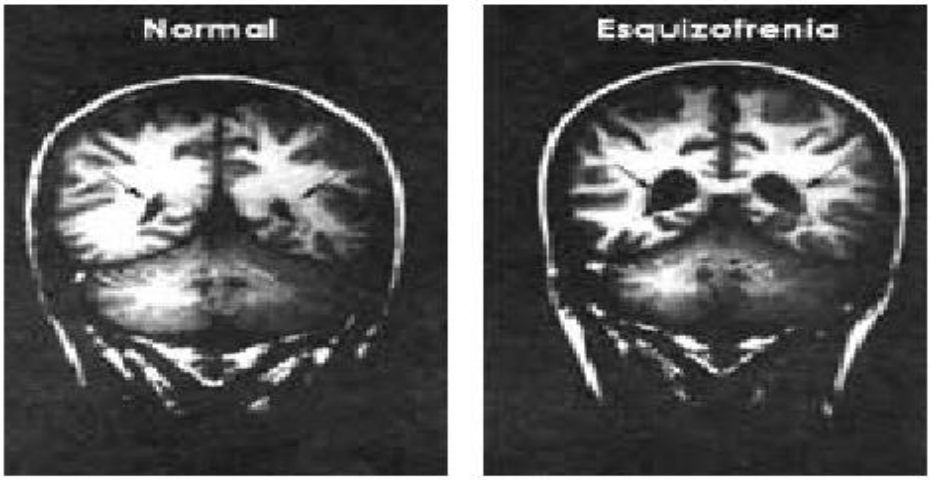


Figura 2. Dilatación de los ventrículos laterales de un paciente con esquizofrenia en un corte coronal de una Resonancia Magnética.

Aunque las causas, así como el momento en el que ocurren estos cambios morfológicos son difíciles de determinar, estas alteraciones podrían reflejar, al menos en parte, anomalías en el desarrollo neurológico temprano (281). Este hecho refuerza de nuevo la teoría etiopatogénica del neurodesarrollo. Sin embargo, una cuestión que aún permanece sin resolver debido a importantes discrepancias entre estudios es si estas anomalías cerebrales se mantienen durante el transcurso de la enfermedad o, por el contrario, varían progresivamente a lo largo del tiempo (282). De esta forma, algunos estudios longitudinales no encontraron cambios en el volumen cerebral durante el transcurso de la enfermedad (283-285), mientras que otros autores mostraron evidencias de cambios de volumen a lo largo del tiempo (286-288). Esta vertiente apoyaría la teoría de neurodegeneración, o bien una neurotoxicidad secundaria a factores externos como pueden ser drogas, medicación, factores estresantes, etc. Sin embargo, estas discrepancias morfológicas entre los estudios longitudinales de pacientes con psicosis

también podrían ser explicadas, al menos parcialmente, por variaciones de determinados polimorfismos funcionales implicados en el neurodesarrollo (7). Por lo tanto, el estudio del efecto de genes en la estructura del cerebro supone un reto a la hora de identificar fenotipos biológicos de enfermedades psiquiátricas complejas, como la esquizofrenia y otros trastornos psicóticos.

En cuanto al polimorfismo BDNF Val66Met, se ha observado que individuos sanos portadores del alelo Met presentaban un volumen de sustancia gris más pequeño (SG), así como un menor volumen del hipocampo, la amígdala y tálamo (289-291) El polimorfismo BDNF Val66Met ha sido ampliamente asociado con la estructura del hipocampo quizás debido a la liberación alterada de BDNF por las neuronas del hipocampo observada en cultivos celulares (292). Un reciente meta-análisis mostró una discreta asociación del alelo Met, con menores volúmenes del hipocampo (293). Sin embrago, la mayoría de los estudios sobre la influencia de gen BDNF en la estructura del cerebro en pacientes con esquizofrenia se han centrado en estudios transversales, tanto en individuos crónicos (289, 294, 295) como en primeros episodios de psicosis (PEP) (291, 296). Algunos estudios también han investigado la asociación entre el polimorfismo BDNF y los cambios de volumen cerebrales a través del tiempo. Uno de ellos investigó una cohorte de pacientes crónicos que fueron seguidos durante cinco años (297) y dos estudios se centraron en PEP con un seguimiento de tres años y un año, respectivamente (296, 298). En dos de estos estudios, no se observo ningún efecto significativo del polimorfismo BDNF Val66Met en los cambios de volumen del hipocampo (296, 297). Contrariamente, Ho et al. (2007) describen que el genotipo BDNF puede ser uno de los factores que afectan pérdida de volumen cerebral progresiva en la esquizofrenia y parece significativo en aquellos portadores del alelo Met (298).

Estudios recientes han mostrado una asociación de variaciones en SNPs del gen NRG1 con alteraciones morfométricas cerebro en pacientes con psicosis. En la esquizofrenia, el alelo C (citosina) de NRG1 SNP8NRG221533 en situación de riesgo se asoció con un menor volumen de sustancia blanca (SB) en comparación con los pacientes que eran homocigóticos para el alelo T (timina) (299). También se encontró una asociación entre otro polimorfismo del gen NRG1, el SNP8NRG243177 (rs6994992), y el tamaño de los VL en pacientes que experimentaron un primer episodio de psicosis no afectivas, con un aumento significativo en los portadores del alelo de riesgo (300) (Figura 3).

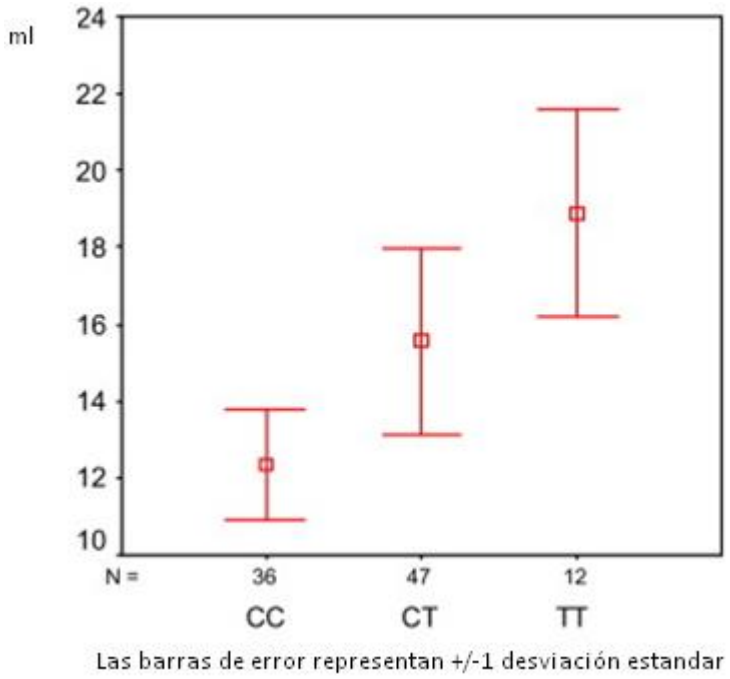


Figura 3. Volumen de los ventrículos laterales según el polimorfismo SNP8NRG243177 (rs6994992) del gen NRG1. El eje de coordenadas representa el volumen de los ventrículos laterales mientras que el eje de abscisas representa los individuos homocigotos para el alelo C (N=34), los heterocigotos CT (N=47) y los homocigotos para el alelo T (N=12). Figura adaptada de: Mata I et al. A Neuregulin 1 Variant Is Associated with Increased Lateral

Ventricle Volume in Patients with First-Episode Schizophrenia. Biological Psychiatry (2009), 65 (6): 535-540.

En lo referente al gen CNR1, unos pocos estudios también han demostrado que algunos SNPs están asociados con anormalidades morfológicas cerebrales. Por ejemplo, los estudios de pacientes con esquizofrenia consumidores de cannabis (301, 302) y estudios con voluntarios sanos (241) han identificado variantes específicas de CNR1 relacionadas con reducciones en SB, como los portadores del alelo G en el rs2023239 y del rs12720071 . Además, estudios neuroanatómicos encontraron un aumento selectivo de los receptores CB1 en los pacientes con esquizofrenia independientemente del consumo de cannabis, especialmente en la protuberancia cerebral (303), el núcleo accumbens (304) y la corteza prefrontal (305).

3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Justificación

La influencia genética asociada a las alteraciones cerebrales de pacientes tras un primer episodio de psicosis apenas ha sido explorada. De la misma manera, aun existen controversias sobre si tales anomalías cerebrales mostradas en la neuroimagen se mantienen o varían a lo largo del tiempo. Este estudio pretende ayudar a conocer el papel de tres polimorfismos supuestamente relacionados con psicosis (genes BDNF, NRG1 y CNR1) en las anomalías cerebrales de los pacientes que presentan un primer episodio de psicosis y su implicación en determinadas características clínicas, y en la evolución temporal de tales alteraciones, que hasta ahora permanece no aclarado. Por otra parte, este trabajo puede contribuir a un mejor conocimiento de los mecanismos patogénicos del inicio de los episodios de psicosis, y por tanto, podría abrir la puerta a la identificación de nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento de estas enfermedades mentales. El estudio de ciertos factores genéticos implicados en el desarrollo neurológico pueden ser herramientas claves para entender la evolución a largo plazo de la enfermedad esquizofrenia

3.2. Hipótesis

La hipótesis general de este estudio es que variaciones en polimorfismos implicados en esquizofrenia y trastornos del espectro desempeñan un papel importante en la estructura cerebral de pacientes tras un primer episodio psicótico. Basándonos en investigaciones previas, se hipotetiza una relación entre los cambios de la neuroimagen clásicos de la esquizofrenia (reducción de SG, dilatación de VLs, etc.) y la presencia del alelo de riesgo de los siete polimorfismos analizados, pertenecientes a los genes: BDNF, NTG1 y CNR1. Así mismo, se espera que alguno de los polimorfismos del gen CNR1 esté asociado con incrementos en el IMC. En consecuencia, estos polimorfismos estarían relacionados con cambios en la

neuroimagen a lo largo del tiempo y en la evolución de determinadas variables clínicas de la enfermedad.

3.3. Objetivos

Los objetivos de este trabajo van dirigidos a aclarar el papel de los polimorfismos BDNF, NRG1 y CNR1 en las anomalías cerebrales de pacientes tras un primer episodio de psicosis, y la posible implicación de tales en la evolución de la neuroimagen y la psicopatología de la enfermedad. Esto se traduce en los siguientes objetivos específicos:

1. Explorar posibles efectos de polimorfismos del BDNF Val66Met (rs6265), de NRG1 (SNP8NRG243177, SNP8NRG221533, SNP8NEG221132) y de CNR1 (rs1049353, rs1535255 y rs2023239) en alteraciones de la estructura cerebral en individuos con un primer episodio de psicosis, y de los polimorfismos BDNF Val66Met y NRG1 en controles sanos.

2. Identificar la influencia de polimorfismos del BDNF Val66Met (rs6265), de NRG1 (SNP8NRG243177, SNP8NRG221533, SNP8NEG221132) y de CNR1 (rs1049353, rs1535255 y rs2023239) en cambios progresivos cerebrales tres años posteriores de sujetos tras un primer episodio de psicosis; y de los polimorfismos BDNF Val66Met y NRG1 en controles sanos.

3. Analizar el efecto de los polimorfismos Val66Met BDNF (rs6265), de NRG1 (SNP8NRG243177, SNP8NRG221533, SNP8NEG221132) y de CNR1 (rs1049353, rs1535255 y rs2023239) en las características clínicas y sociodemográficas de pacientes con un episodio de psicosis no afectiva.

4. Estudiar las relaciones entre los polimorfismos del gen CNR1 (rs1049353, rs1535255 y rs2023239) y la sintomatología positiva y negativa de trastornos del

espectro de la esquizofrenia así como con su evolución al cabo de tres años de un primer episodio de psicosis.

5. Estudiar las relaciones entre los polimorfismos del gen CNR1 (rs1049353, rs1535255 and rs2023239) y el IMC y su evolución al cabo de tres años de un primer episodio de psicosis.

4. MATERIAL Y METODOS

4.1. Ámbito del estudio

Los estudios presentados en esta tesis han sido realizados dentro del Programa de Atención a las Fases Iniciales de Psicosis (PAFIP), llevado a cabo en el servicio de psiquiatría del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, en Santander. Este hospital atiende a un área epidemiológica de población de la zona de 550.000 personas. Los pacientes referidos a PAFIP proceden de la unidad de hospitalización y servicio de urgencias así como de las unidades de salud mental y de atención primaria de toda la región de Cantabria (306). Los objetivos del programa PAFIP son tanto de tipo asistencial como investigador durante los tres primeros años de la enfermedad. Desde el punto de vista asistencial, el propósito del programa es lograr una recuperación precoz y prevenir recaídas.

4.2. Población incluida

Entre Febrero de 2001 y Diciembre de 2007 todos los primeros episodios de psicosis de Cantabria fueron remitidos al programa PAFIP e incluidos si cumplían los siguientes criterios: 1) edad comprendida entre 15 y 60 años. 2) Diagnóstico de esquizofrenia, trastorno esquizofreniforme, trastorno esquizoafectivo, trastorno psicótico breve, trastorno esquizotípico de la personalidad y psicosis no especificada, según el DSM-IV, 4ª versión del manual diagnóstico y estadístico de la Sociedad Americana de Psiquiatría, a través de la entrevista estructurada SCID (Escala estructurada de discapacidad de la Organización Mundial de la Salud) (307). 3) Que habitualmente viviesen en la región de referencia, entendiendo por esta la comunidad de Cantabria. 4) No haber recibido, previa a la inclusión en el programa, tratamientos con medicación antipsicótica durante más de 6 semanas. 5) La presencia de síntomas psicóticos de gravedad entre moderada y severa en el momento de inclusión, según al menos uno de los cinco ítems de la escala de Andreasen (1984) para la valoración de los síntomas positivos (SAPS) (308). Aquellos pacientes que reuniendo criterios

presentaron retraso mental (según criterios DSM) o dependencia de sustancias diferentes de la nicotina, aunque fueron inicialmente tratados hasta la remisión de la sintomatología aguda, se derivaron a sus correspondientes centros de salud mental y no fueron incluidos en el programa. Los pacientes y sus familiares dieron su consentimiento escrito para participar en las áreas de investigación del programa. Este estudio se realizó de acuerdo a los estándares internacionales de ética en investigación y fueron aprobados por el comité de ética del Hospital Marqués de Valdecilla.

Un total de 248 pacientes fueron incluidos en PAFIP e invitados a realizar un estudio de RM. De estos 248, 75 sujetos rehusaron realizar el estudio RM, 17 no pudieron completar el estudio de RM y de 14 se obtuvieron imágenes de poca calidad para el posterior procesamiento. De estos 142 pacientes, tenían otra RM al finalizar el programa y además datos de genotipado: 80 para BDNF Val66Met, 59 para los tres SNPs del gen NRG1 y 65 pacientes estaban genotipados para el gen CNR1.

Un grupo de sujetos sanos fueron reclutados como grupo control través de anuncios en la comunidad. En este trabajo se incluyeron aquellos sujetos con una prueba de RM inicial y otra al cabo de tres años con suficiente calidad para el procesamiento de las imágenes. Ninguno tenía historia de enfermedad psiquiátrica o neurológica incluyendo dependencia de sustancias y traumatismo craneoencefálico con pérdida de conciencia. Esta información se obtuvo mediante una versión abreviada de la escala Comprehensive Assessment of Symptoms and History (CASH) (309). La ausencia de familiares de primer grado con psicosis fue confirmada. Todos los sujetos, después de haber sido debidamente informados, firmaron consentimiento informado antes de la participación en el estudio de acuerdo con el comité ético del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. De esta cohorte longitudinal de

individuos sanos, 54 estaban genotipados para BDNF Val66Met, 12 para los SNPs CBR1 y 14 para NRG1.

4.3. Evaluación sociodemográfica y clínica

La información sociodemográfica se recogió tanto de los pacientes como de sus familiares a través de diferentes entrevistas realizadas por el equipo médico del programa PAFIP. La edad, el sexo y los antecedentes familiares de psicosis se recogieron en el momento de la admisión al programa. El consumo de sustancias (cannabis, alcohol, tabaco), el peso y la altura se recogieron en el momento de inclusión así como durante el seguimiento longitudinal.

La duración de psicosis sin tratar (DUP) se definió como el tiempo transcurrido, en meses, desde la aparición del primer síntoma psicótico que se mantuvo de forma continuada y el inicio del tratamiento adecuado.

La evaluación de la gravedad clínica se realizó mediante la escala breve de evaluación psiquiátrica (BPRS) (310), SANS (311), SAPS (308) y la escala de impresión clínica global-gravedad de la enfermedad (CGI-S) (312).

La escala BPRS es una escala de valoración psicopatológica general. Se diseñó con el objeto de valorar la respuesta al tratamiento farmacológico. La versión empleada tiene 24 ítems, cada uno de los cuales se puntúan del 1 a 7 donde: uno es equivalente a “ausencia del síntoma”, 2 “muy leve”, 3 “leve”, 4 “moderado”, 5 “moderadamente grave”, 6 “grave” y 7 “extremadamente grave”.

La presencia de síntomas negativos y positivos se evaluó mediante SANS y SAPS. Fueron inicialmente concebidas para tratar de relacionar la clínica de los trastornos psicóticos con substratos neurobiológicos asó como para el estudio diagnóstico y nosológico de dichos trastornos. Cada una de las escalas consta de 5 ítems. Los ítems de la escala SANS están

relacionados con alogia, apatía, asociabilidad, aplanamiento afectivo y atención. En el caso de la escala SAPS, están relacionados con delirios, alucinaciones, conducta extravagante, trastornos formales del pensamiento y afecto inapropiado. Estas escalas fueron aplicadas y puntuadas por un psiquiatra experto, mediante entrevistas semiestructuradas, en el momento del primer contacto con los pacientes así como longitudinalmente, al año y a los tres años.

La escala CGI-S se trata de una escala descriptiva que proporciona información cualitativa sobre la gravedad del cuadro. Se puntúa del 0 al 7 siendo cero "no evaluado", 1 "normal, no enfermo", 2 "dudosamente enfermo", 3 "levemente enfermo", 4 "moderadamente enfermo", 5 "marcadamente enfermo", 6 "gravemente enfermo", y 7 "entre los pacientes más extremadamente enfermos".

Para evaluar la evolución funcional al cabo de tres años, se utilizó el ítem de discapacidad global de la versión española de la Escala de Evaluación de Discapacidad (DAS) (313). Los pacientes se clasificaron en dos grupos: buena funcionalidad si es menor o igual a uno y déficit en la funcionalidad si es mayor o igual que dos.

4.4. Adquisición de las imágenes mediante RM

Las imágenes de RM fueron adquiridas mediante un escáner 1.5 Tesla General Electric SIGNA System (GE Medical System, Milwaukee, WI) en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Se obtuvieron las imágenes T1 (tiempo de relajación longitudinal), usando una secuencia tridimensional, en el plano coronal con los siguientes parámetros: TE= 5ms, TR=24ms, NEX=2, ángulo de rotación= 45 grados, FOV= 26x24x18.8 cm, y matriz de 256x192x124. También se obtuvieron secuencias bidimensionales densidad de protones (DP) y T2 (tiempo de relajación transversal), con los siguientes parámetros: 3.0 o 4.0 mm de grosor de los cortes coronales, TR (tiempo de repetición)= 3000ms, TE (tiempo de eco)= 36 ms (para

PD) y 96ms (para T2), NEX (número de excitaciones)=1, FOV (fiel of view)=26x26 cm, matriz=256x192.

4.5. Procesamiento de las imágenes

Las imágenes de RM fueron procesadas utilizando el software BRAINS2 (314, 315). Este programa ha sido desarrollado en la Universidad de Iowa durante los últimos 20 años y permite la cuantificación de imágenes estructurales. El análisis de las imágenes está compuesto, principalmente, de cuatro pasos:

1) Alinear y co-registrar todas las secuencias a la misma orientación y resolución.

2) Realizar una clasificación del tejido cerebral

3) Definir los bordes del cerebro y parcelarlo en subregiones y estructuras

4) Realizar mediciones del volumen y grosor cortical.

A modo de resumen, las imágenes T1, que fueron tomadas como referencia, fueron espacialmente normalizadas y recolocadas en voxels de 1 mm. De esta forma, el eje cerebral antero-posterior es realineado paralelo a la línea que pasa por la comisura anterior y por la comisura posterior (ACPC), y la línea interhemisférica es alineada en relación con los otros dos ejes. Las imágenes PD y T2 fueron superpuestas a la imagen T1 espacialmente normalizada utilizando un programa automático de registro. Estas imágenes fueron sujetas normalización espacial en el espacio de Talairach que permite generar medidas automáticas de los lóbulos frontal, parietal, temporal y occipital. Posteriormente se creó una imagen única segmentada, utilizando las imágenes T1, PD y T2, mediante un análisis discriminante en la cual cada punto de la imagen es clasificado como SG, SB o líquido cefalorraquídeo (LCR). A cada vóxel se le asigna un número de 8 bits indicando el contenido de tejido en el volumen

parcial (10-70 para LCR, 70-190 para SG y 190-250 para SB). De esta forma, a cada vóxel se le asigna un valor que refleja la combinación relativa de SG, SB o LCR y que nos permite una corrección optima del volumen parcial. Una imagen tridimensional cerebral fue generada a partir de estas imágenes bidimensionales segmentadas. Esta imagen clasificada atendiendo al tipo de tejido, SG, SB o LCR, es entonces utilizada para generar una superficie triangulada cortical que es el reflejo del centro paramétrico de la SG, 130, y que representará el contorno exterior del cerebro. Las estructuras subcorticales, caudado y el tálamo, se delinearon utilizando una red neuronal artificial semiautomatizada, fiable y validada.

La superficie triangulada permite la reconstrucción tridimensional del cerebro, de gran ayuda para la visualización general del recorrido de los surcos y de la morfología de los giros corticales. Esta superficie servirá como base para el cálculo del grosor cortical de SG y la superficie cortical de cada región. El grosor de la capa cortical se calcula como la mínima distancia entre el 100% de la superficie del triángulo de materia gris y el cociente entre el 50% de materia gris superficial y el 50% de materia blanca.

4.6. Genotipado

Se seleccionaron los genes candidatos para trastornos del espectro de la esquizofrenia teniendo en cuenta una búsqueda bibliográfica en la que se identificaron genes relacionados directamente con la etiopatogenia de las psicosis. Una vez realizado el genotipado de los mismos en las muestras de pacientes, se eligieron aquellos polimorfismos que tenían un mayor tamaño muestral. Finalmente, se seleccionaron tres genes candidatos: el gen del factor neurotrófico derivado del cerebro (**BDNF**), neurotrofina de la familia de los factores de crecimiento con un papel importante en el neurodesarrollo, neurodegeneración, neurotransmisión, aprendizaje, cambios del humor y respuesta a estrés; el gen de la neuregulina (**NRG1**), cuyas proteínas se detectan en las neuronas de muchas áreas del

cerebro humano durante el desarrollo y la vida adulta. Estas proteínas regulan muchas funciones importantes en el sistema nervioso, incluyendo la mielinización, la expresión del receptor del neurotransmisor, la migración de células gliales, y la formación de sinapsis; y por último, el gen de los receptores cannabinoides 1 (**CNR1**), el cual se han asociado con efectos centrales y periféricos del cannabis y con la fisiopatología de la esquizofrenia.

EL DNA fue extraído de muestras de sangre venosa. Las muestras biológicas fueron almacenadas y en el Biobanco Marqués de Valdecilla del Instituto de Investigación Valdecilla (IDIVAL). Las muestras se recogieron, trataros y almacenados de acuerdo a los protocolos de calidad, y garantizando la seguridad y confidencialidad de los datos del donante.

El genotipado de los SNPs seleccionados se hizo, en el caso del BDNF Val66Met, mediante la tecnología TaqMan (Applied Biosystems, ABI, Foster City, CA, USA) y en el caso de los SNPs de los genes NRG1 y CNR1, con la tecnología SNPlex (Applied Biosystems, ABI, Foster City, CA, USA) (316). Todos los genotipados se hicieron de forma ciega, con las muestras de pacientes y de controles seleccionadas aleatoriamente.

La técnica de SNPlex (Applied Biosystems) permite el genotipado simultáneo de 48 SNPs por pocillo. La discriminación de los dos alelos de un SNP se lleva a cabo mediante una ligación específica de alelo (OLA), en la que se utilizan dos oligonucleótidos con el nucleótido del SNP en el extremo 3' y un oligonucleótido común que se une a la región adyacente al SNP. Los productos de la ligación se amplifican mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) múltiplex que utiliza como cebadores las secuencias universales presentes en los oligonucleótidos. Tras la reacción de PCR, los amplicones se hibridan a una mezcla de sondas fluorescentes (sondas ZipChute), complementarias a las secuencias ZipCode también presentes en los oligonucleótidos, y que muestran movilidades únicas y pre-optimizadas en una electroforesis capilar. La identificación de las sondas ZipCute que han hibridado se realiza

en un analizador de DNA 3130xl (Applied Biosystems) y los resultados se analizan con el software GeneMapper 3.7.

La tecnología TaqMan utiliza la actividad 5' exonucleasa de la polimerasa junto con dos sondas de hidrólisis TaqMan para discriminar entre los dos alelos de un SNP. Las dos sondas TaqMan son complementarias a los dos alelos de un SNP y cada una tiene un *quencher* (apantallador, que bloquea su emisión de fluorescencia) en su extremo 3' y una molécula fluorescente a 5'. Durante la fase de anillamiento-extensión, la sonda se hibrida a los amplicones y la DNA polimerasa la rompe, lo que resulta en un incremento de la fluorescencia debido a que el quencher ya no se encuentra en las proximidades. La fluorescencia se detecta utilizando el RealTime ABI PRISM® 7900 Sequence Detector. Esta técnica resulta óptima para estudios que requieran el análisis de muchas muestras para el genotipado de unos pocos SNPs, ya que si bien permite el análisis de un gran volumen de muestras, no es posible el análisis simultáneo de varios SNPs.

4.7. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos fueron realizados mediante el paquete estadístico para las Ciencias Sociales (SPSS Inc, Chicago, Illinois). La descripción del análisis estadístico de cada trabajo incluido en esta tesis se puede encontrar de forma detallada en la sección correspondiente de métodos de cada uno de ellos.

A modo de resumen, para el tratamiento de las variables clínicas y sociodemográficas entre pacientes y controles o entre variaciones en los polimorfismos se utilizó Chi-cuadrado de Pearson para las variables cualitativas y el análisis de la varianza (ANOVA) de una vía para las variables categóricas y continuas. Cuando las varianzas no eran iguales (como se determina mediante la prueba de Levene), se utilizaron pruebas t para varianzas distintas (de Welch). Si

alguna de estas variables fue significativamente diferente, se incluyó como covariable en los análisis posteriores.

Se comprobó si las frecuencias genotípicas entre pacientes y controles estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) a través de una prueba Chi-cuadrado de Pearson.

En los análisis transversales, para examinar diferencias entre los distintos grupos genotípicos en pacientes se realizó un análisis de la covarianza (ANCOVA), con las medidas de RMN y clínicas como variables dependientes y el grupo genotípico como independiente. La edad, el volumen intracraneal y el consumo de tóxicos fueron siempre incluidos como covariables. El mismo análisis se repitió en el caso de los controles.

Los efectos longitudinales de las variantes de los polimorfismos se evaluaron mediante un modelo lineal general (GLM) de medidas repetidas. Este modelo se llevó a cabo por separado entre pacientes y controles para las medidas de RM, y las variables clínicas, con el genotipo como variable intersujeto y el tiempo como variable intrasujeto. Se examinó el efecto de tiempo (dimensión longitudinal), y la interacción entre tiempo y grupo de genotipo (efecto de interacción). La edad, el volumen intracraneal y el consumo de tóxicos se incluyeron como covariables. Un nivel alfa de $p < 0.05$ se utilizó para todos los análisis.

A modo partículas, en los análisis que implicaban a los polimorfismos BDNF y NRG1, para examinar los efectos de la medicación antipsicótica sobre los cambios de volumen cerebral, se calculó la diferencia entre el volumen cerebral a los tres años y el basal y se calculó el coeficiente de correlación de Spearman con respecto a la dosis de la medicación acumulada durante el seguimiento, convertida en equivalentes de clorpromazina. Las correlaciones se realizaron para cada variación de los genotipos introduciendo la edad y el volumen intracraneal como covariables.

En el caso del gen CNR1 las asociaciones de los diferentes modelos genéticos se comprobaron usando pruebas de regresión logística con el alelo menor de cada SNP. La información de

Akaike (AIC) se utilizó para comparar la probabilidad de los modelos de heredabilidad. AIC se define como -2ln (L) + dos veces el número de parámetros estimados y el modelo con el menor valor de AIC sería el que minimiza la entropía esperada (317). Según estos criterios, el "mejor" modelo se consideró que el de menor AIC y esto fue utilizado en el análisis final (318).

5. RESULTADOS

En este apartado se describen, en primer lugar y de forma breve, los principales resultados publicados en los siguientes artículos:

1) BDNF Val66Met variants and brain volume changes in non-affective psychosis patients and healthy controls: a 3 year follow-up study. Suárez-Pinilla P, Roiz-Santiáñez R, de la Foz VO, Mata I, Fañanas L, Brambilla P, Ruíz-Pérez E, Crespo-Facorro B. Progress Neuropsychopharmacology Biological Psychiatry. 2013 Aug 1; 45: 201-206

2) Progressive Structural Brain Changes and NRG1 Gene Variants in First-Episode Nonaffective Psychosis. Suárez-Pinilla P, Roíz-Santiañez R, Mata I, Ortiz-García de la Foz V, Brambilla P, Fañanas L, Valle-San Román N, Crespo-Facorro B. Neuropsychobiology. 2015 Apr 9; 71(2):103-111

3) Brain structural and clinical changes after first episode psychosis: Focus on cannabinoid receptor 1 polymorphisms. Suárez-Pinilla P, Roiz-Santiañez R, Ortiz-García de la Foz V, Guest PC, Ayesa-Arriola R, Córdova-Palomera A, Tordesillas-Gutierrez D, Crespo-Facorro B. Psychiatry Research. Neuroimaging 2015 May 21 (in press)

Posteriormente se describen, de forma integrada, todos los resultados recogidos en las publicaciones citadas anteriormente, respondiendo a los objetivos de este trabajo, e incorporando también algunos resultados y análisis suplementarios.

5.1. Resultados publicados

5.1.1 Variaciones en el gen BDNF Val66Met y cambios progresivos del volumen cerebral en pacientes con psicosis no afectiva y en voluntarios sanos

En este estudio se analizaron los posibles efectos de variaciones en el polimorfismo BDNF Val66Met sobre las alteraciones de la estructura cerebral. En primer lugar, se exploró en una muestra de 80 pacientes que debutaron con un primer episodio de psicosis no afectiva durante un seguimiento de tres años. Los pacientes fueron sometidos a genotipado del polimorfismo BDNF Val66Met y a dos RMNs (al comienzo de la enfermedad, estando prácticamente libres de medicación; y a los tres años). Fueron divididos en dos grupos en función la presencia (25%; n=20) o ausencia del alelo de riego Met (80%; n=60). De forma paralela, se hizo lo mismo con 54 voluntarios sanos, de los cuales el 16,7% eran portadores del alelo de riesgo Met (n=9) y el 83,3% (n=45) eran homocigotos para el alelo Val. La distribución genotípica estaba en HWE entre pacientes y controles sanos.

A pesar de tratarse de un gen fuertemente implicado en el neurodesarrollo, los análisis no detectaron asociaciones significativas entre las variantes del polimorfismo y los volúmenes cerebrales al inicio en pacientes (todas las $F \leq 2.29$; todas las $p \geq 0.132$) e individuos sanos (todas las $F \leq 3{,}50$; todas las $p \geq 0{,}060$). Tampoco había diferencias significativas entre los subgrupos genotípicos y las regiones estudiadas al cabo de tres años en los sujetos con psicosis (todas las $F \leq 2{,}67$; todas las $p \geq 0{,}105$) y en los controles (todas las $F \leq 2{,}77$; todas las $p \geq 0{,}102$). Tampoco se observaron asociaciones entre los posibles cambios longitudinales a lo largo del tiempo y la presencia del alelo de riesgo en pacientes (todas las $F \leq 2.60$; todas las $p \geq 0.110$) y en individuos sanos (todas las $F \leq 2{,}52$; todas las $p \geq 0{,}119$). Estos resultados permanecieron inalterables cuando la edad y el volumen intracraneal fueron incluidos como

covariables. Todas las comparaciones se realizaron entre las variantes del polimorfismo y el volumen cerebral total, SG, SB, VL, LCR, tálamo y núcleo caudado.

Por otro lado, estudiamos la influencia del polimorfismo BDNF Val66Met en la funcionalidad de los pacientes tres años después de haber sufrido el primer episodio de psicosis. No había diferencias de los déficits de funcionalidad entre los portadores del alelo de riego Met y los homocigotos para el alelo Val tras tres años de enfermedad (X^2=0,66; p=0,564); tampoco se relacionaron entre sí los cambios de volumen cerebral con el déficit de funcionalidad.

Finalmente, se exploraron posibles diferencias en las características sociodemográficas y clínicas iniciales. En los pacientes, no hubo diferencias significativas entre las variaciones del genotipo con respecto estas variables. En el grupo de individuos sanos, los controles portadores del alelo de riesgo tenían tasas significativamente más altas de consumo de alcohol (X2 = 6,06; p = 0,019) en comparación con los controles homocigotos para el alelo Val.

5.1.2. Cambios progresivos cerebrales y variaciones del gen NRG1 en primeros episodios de psicosis no afectivas.

El objetivo de este estudio fue investigar la influencia de las variantes de polimorfismos del gen NRG1 (SNP8NRG221132, SNP8NRG6221533 and SNP8NRG243177) en los cambios del volumen cerebral durante las fases iniciales de las psicosis no afectivas. Cincuenta y nueve pacientes con un primer episodio de psicosis y 14 voluntarios sanos fueron sometidos a técnicas de genotipado para el gen NRG1 y RMN estructural en tres momentos determinados (inicial, tras uno y tres años de seguimiento). No se observaron diferencias significativas en la distribución genotípica en el HWE entre pacientes y controles para ninguno de los tres SNPs.

Las comparaciones se realizaron entre las variantes del polimorfismo y el volumen cerebral total, SG, SB, VL, LCR, tálamo y núcleo caudado. Dentro del grupo de pacientes, se observó que

el grupo portador del alelo de riesgo C del polimorfismo SNP8NRG6221533 (n= 31) presentaban un incremento significativo del volumen de los VL del cerebro a lo largo de los tres años (F = 5,10; p = 0,013) en comparación con aquellos pacientes homocigotos para el alelo T (n=28). Del mismo modo, al cabo de tres años, la diferencia de volúmenes entre grupos fue significativa en cuanto a los VL (F= 6,17; p= 0,016) y la SB (F=4,42; p=0,040) para este polimorfismo. Con este polimorfismo, en aquellos pacientes homocigotos para el alelo T, se encontró una correlación entre la dosis de antipsicóticos y los cambios de volumen cerebral total (r = 0,40, p = 0,04) y cambios del LCR (r = 0,48, p = 0,01) durante los tres años de seguimiento. Para los portadores del alelo C, se encontró una correlación entre la dosis de antipsicóticos y los cambios de volumen tálamo en los tres años (r=-0.56, p≤0.01). En pacientes, el consumo de cannabis fue significativamente distinto entre los dos grupos genotípicos (χ^2 = 5,99; p <0,02), con una mayor tasa de usuarios de cannabis entre los pacientes homocigotos para el alelo T que entre los portadores del alelo de riesgo C. Cuando la muestra se limitó a los pacientes que cumplían los criterios diagnósticos de esquizofrenia después de 6 meses, la asociación entre el consumo de cannabis y el polimorfismo del gen NRG1 dejó de ser significativa (χ2=3,26; p= 0,09). No se encontraron diferencias significativas entre otras variables sociodemográficas y clínicas en pacientes (todas las p> 0,13) ni en individuos sanos (todas las p> 0,44). Sin embargo, el consumo de cannabis fue introducido como covariable en todos los análisis.

No se encontramos diferencias volumétricas con ninguno de los otros dos polimorfismos del gen NRG1 (SNP8NRG243177 y SNP8NRG221132). En sujetos sanos tampoco se observaron diferencias en cuanto a las variaciones de los polimorfismos, ni cuando la muestra completa (n=73) fue analizada en su conjunto.

5.1.3. Cambios en la estructura cerebral y en la clínica tras un primer episodio de psicosis: Papel de los polimorfismos del CNR1

En este estudio se comprobó si variaciones en los polimorfismos del gen CNR1 (rs1049353, rs1535255 y rs2023239) se asociaban con alteraciones en la morfología cerebral en 65 pacientes con un primer episodio de psicosis al inicio de la enfermedad y a los tres años del mismo. Así mismo, también se estudió si existía alguna relación entre las variantes de los polimorfismos con cambios cerebrales progresivos durante el seguimiento. Se realizaron técnicas de genotipado para los SNPs del gen CNR1 y dos RMNs (al inicio de la enfermedad y al cabo de tres años). Después de tres años de seguimiento, el alelo de riesgo A del polimorfismo rs1049353 se asoció a un menor volumen del núcleo caudado (F=9.39; p =0,003). De esta forma, los pacientes portadores del alelo A del rs1049353 (n=29) tenían una reducción de volumen 3,27 veces mayor en comparación con aquellos pacientes que eran homocigóticos para el alelo G (guanina) (n=36) (reducción de 0,252 cm^3 y 0,078 cm^3, respectivamente). Del mismo modo, los pacientes con la variante T/C del polimorfismo rs2023239 (n=16) presentaban un volumen de tálamo menor (F=4,85; p=0,032) que aquellos homocigotos para T (n=49) al cabo de tres años. Hubo una reducción significativa en el tálamo después de tres años en ambos grupos (F= 4,64; p = 0,035), pero la reducción era más del doble (pérdida de 0,73 cm^3) en pacientes T/C en comparación con los pacientes T/T (pérdida de 0,36 cm^3). No se encontraron correlaciones significativas entre la dosis de medicamentos acumulada y cambios en los parámetros de neuroimagen durante el seguimiento con ningún subgrupo genotipo.

De forma paralela, se analizó si existía alguna relación entre los polimorfismos, la neuroimagen y el consumo de cannabis. En el caso del rs1535255, existía una interacción con el cannabis en la SB (F=7,39; p=0,009) y los VL (F=5,99; p=0,019); los pacientes que no eran

fumadores de cannabis y que portaban el alelo de riesgo T (n=30) tenían volúmenes de SB significativamente más pequeños en el inicio (F=5,34; p =0,028) y después de tres años (F=12,85; p=0,001), en comparación con los homocigotos para C no fumadores (n=5). Además, el grupo de pacientes que eran portadores del alelo T y no fumaba cannabis mostraron un volumen significativamente mayor de VL al inicio del estudio (F= 5,00; p =0,033) y después de tres años (F =7,79; p=0,009), en comparación con los no fumadores del grupo C/C. Respecto al polimorfismo rs2023239, también se observó una interacción cannabis-genotipo en el volumen de los VL (F=6,04; p=0,017). En los pacientes T/C no fumadores de cannabis (n=9) se observó una mayor elongación de los VL al cabo de tres años (F=5,20; p= 0,030) en comparación con aquellos del grupo T/ T no fumadores (n=26).

También se analizó el IMC en relación a los polimorfismos del gen CNR1. No existía un efecto significativo de ninguna de las variantes en los cambios en el IMC. Sin embargo, hubo una interacción del polimorfismo rs1049353 con el consumo de cannabis (F= 7,16; p=0,010). En aquellos pacientes que no fumaban cannabis y portadores del alelo A (N=17), el IMC fue significativamente menor en el inicio (F= 7,79; p =0,008) y después de tres años de seguimiento (F=5,20; p=0,030) en comparación con los homocigotos para el alelo G no consumidores (n=18).

Por otro lado, se estudió la relación entre la sintomatología clínica de trastornos del espectro de la esquizofrenia y el genotipo. La variante rs2023239 fue significativa para la mejoría de los síntomas positivos y negativos de trastornos del espectro de la esquizofrenia. Específicamente, los pacientes T/ T (n=49) mostraron una mejora significativa en síntomas positivos (F= 8,76; p =0,004) y negativos (F=4,51; p=0,038) en comparación con los pacientes T/C (n=16). Por otra parte, no hubo correlaciones significativas entre la dosis de

medicamentos y los cambios en el IMC y la sintomatología positiva y negativa cuando se exploró cualquier subgrupo genotipo.

5.2. Resultados integrados

5.2.1. Papel de los polimorfismos BDNF Val66Met, NRG1 (SNP8NRG243177, SNP8NRG221533, SNP8NRG221132) y CNR1 (rs1049353, rs1535255 y rs2023239) en alteraciones de la estructura cerebral en individuos con un primer episodio de psicosis.

Se estudiaron diferencias transversales entre los subgrupos genotípicos y el volumen cerebral en el momento inicial y tras tres años de seguimiento. En el grupo de pacientes en el momento inicial de la psicosis, ninguna variante de los SNPs estudiados se relacionaba con anomalías en la estructura cerebral. Sin embrago, los análisis transversales al cabo de tres años mostraron que variaciones en tres polimorfismos de los genes NRG1 y CNR1 se asociaban con anomalías en la estructura cerebral. Así, se encontró una diferencia significativa en los VL ($F > 6,17$; $p < 0,02$) y la SB ($F=4,42$; $p=0,04$) en los pacientes portadores del alelo de riesgo del SNP8NRG221533 del gen NRG1 a los tres años (artículo 2). En el caso del gen CNR1, se identificó una diferencia significativa después de que el período de seguimiento de tres años para el volumen tálamo ($F= 4,85$; $p = 0,032$). Los pacientes T/C del alelo rs2023239 tenían volúmenes del tálamo significativamente más pequeños al final del seguimiento en comparación con los pacientes homocigotos para T.

Por otra parte, se encontró una interacción entre el consumo de cannabis y los polimorfismos rs1535255 y rs2023239. Los pacientes que no eran fumadores de cannabis y que portaban el alelo de riesgo T del rs1535255 tenían volúmenes de SB significativamente más pequeños en

el inicio (F=5,34; p =,028) y después de tres años (F=12,85; p=0,001). Además, en este mismo grupo, los VL mostraron un volumen significativamente mayor al inicio del estudio (F= 5,00; p =0,033) y después de tres años (F =7,79; p=0,009), en comparación con los no fumadores homocigotos para C. Respecto al polimorfismo rs2023239, los pacientes que expresan T/C y que no fumaban cannabis presentaban una mayor elongación de los VL al cabo de tres años (F=5,20; p= 0,030) en comparación con aquellos del grupo T/ T (n=26) (artículo 3).

5.2.2. Influencia de los polimorfismos BDNF Val66Met, NRG1 (SNP8NRG243177, SNP8NRG221533, SNP8NRG221132) y CNR1 (rs1049353, rs1535255 y rs2023239) en cambios progresivos de la estructura cerebral en individuos con un primer episodio de psicosis

Se exploró si los cambios a nivel de la neuroimagen durante el seguimiento longitudinal podrían deberse a variaciones en alguno de los polimorfismos seleccionados. En sujetos tras un primer episodio de psicosis, el polimorfismo BDNF Val66Met no parecía influir en variaciones de ninguna región cerebral estudiada a lo largo del tiempo (todas las F ≤2,60; todas las p≥0,110) (artículo 1). La expresión del alelo del riesgo C del polimorfismo SNP8NRG221533 del gen NRG1 mostró un incremento significativo de los VL cerebrales a lo largo del seguimiento en comparación con aquellos homocigotos para el alelo T (F = 5,10; p = 0,013). Este resultado continuaba siendo significativo cuando el volumen intracraneal, la edad y el consumo de cannabis se usaron como covariables en los análisis, y cuando sólo los pacientes que cumplían criterios diagnósticos de esquizofrenia después de seis meses del inicio de la psicosis (n = 52) fueron incluidos en el estudio (artículo 2). Finalmente, las variaciones de dos polimorfismos del gen CNR1 tenían efecto en los cambios progresivos cerebrales. En el caso del rs1049353 se observó que la expresión del alelo de riesgo A se asociaba a una reducción del núcleo

caudado 3,27 veces superior que en aquellos homocigotos para el alelo G (F = 9,39; p = 0,003) (reducción de 0.252 cm^3 y 0.078 cm^3, respectivamente). Respecto al polimorfismo rs2023239, en los pacientes que expresaban T/C (pérdida de 0,73 cm^3), se observó una reducción progresiva del volumen del tálamo (F = 4,18; p = 0,045) significativamente mayor que en los homocigotos para el alelo T (pérdida de 0,36 cm^3). Además, no se encontraron correlaciones significativas entre las dosis del tratamiento antipsicótico acumulado y los cambios en los parámetros de la neuroimagen durante el seguimiento (artículo 3).

5.2.3. Papel de los polimorfismos BDNF Val66Met y NRG1 en los volúmenes cerebrales de controles sanos.

En los análisis transversales realizados en el grupo de individuos sanos, no se observaron diferencias entre los volúmenes cerebrales y las variantes de los polimorfismos del BDNF y de NRG1. De manera similar, los polimorfismos BDNF Val66Met y del gen NRG1 no influían significativamente en cambios neuroanatómicos progresivos en sujetos sanos.

5.2.4. Efectos de las variaciones en los polimorfismos BDNF Val66Met, NRG1 y CBR1 en la evolución clínica de la psicosis

En un primer paso se estudió el efecto del polimorfismo BDNF Val66Met sobre el deterioro funcional al cabo de tres años de la psicosis. No se encontraron diferencias significativas entre los portadores del alelo de riesgo Met y los pacientes homocigotos para Val (X^2 = 0,66; p = 0,564). Además, no hubo un deterioro significativo en ninguno de los dos grupos (todas las F ≤ 1,733; todas las p ≥0,193) (artículo 1).

También estudiamos el efecto de los polimorfismos del gen CNR1 sobre la sintomatología positiva y negativa de trastornos del espectro de la esquizofrenia a través de las escalas SANS y SAPS. Se encontró que sólo el polimorfismo rs2023239 se asociaba con la evolución clínica

después de los tres años de seguimiento. Específicamente, los pacientes homocigotos para el alelo T mostraron una mejora significativa en los síntomas positivos (F= 8,76; p = 0,004) y los síntomas negativos (F= 4,51; p = 0,038) en comparación con los pacientes que expresaban T/C. Además, no se encontraron correlaciones significativas entre el tratamiento antipsicótico y la dosis de los mismos con los cambios en la sintomatología (artículo 3).

Además de los efectos del gen CNR1 a nivel de la sintomatología, se estudió si alguno de estos polimorfismos influía en el IMC. En general, no se observó asociación de los SNPs con el IMC, ya sea en el inicio, después de tres años o durante el período de seguimiento. No obstante, se encontró una interacción entre el polimorfismo rs1049353 con el consumo de cannabis (F= 7,16; p = 0,010). En aquellos pacientes que no fuman cannabis y que portaban el alelo de riesgo A, el IMC fue significativamente menor en el inicio (F= 7,79; p = 0,008) y después de tres años (F= 5,20; p = 0,030) en comparación con los homocigotos para el alelo G que no eran consumidores de cannabis. Tampoco había correlaciones entre el tratamiento antipsicótico y la dosis del mismo con los cambios en el IMC (artículo 3).

Finalmente, se exploró el efecto de la interacción entre los tres polimorfismos del gen CNR1: rs1049353 (portadores de A vs homocigotos de G), rs1535255 (portadores de T frente a homocigotos de C) y rs2023239 (C/T vs T homocigotos) sobre la clínica de la psicosis. El análisis con ANCOVA confirmó un efecto significativo de la interacción entre los tres polimorfismos sobre la sintomatología positiva al cabo de tres años (F = 7,20; p≤0.001). Se encontró que, en aquellos pacientes homocigotos para el alelo G en rs1049353, que también llevaban el alelo de riesgo T para rs1535255 y que que expresaban T / C del polimorfismo rs20233239 (n= 5) presentaban puntuaciones significativamente más altas en la escala SAPS al cabo de tres años que el resto de pacientes (N = 60). No se observaron interacciones en lo

que respecta a otras variables como IMC, SANS y las medidas de neuroimagen, ya sea en el inicio, después de tres años o durante el período de seguimiento (artículo 3).

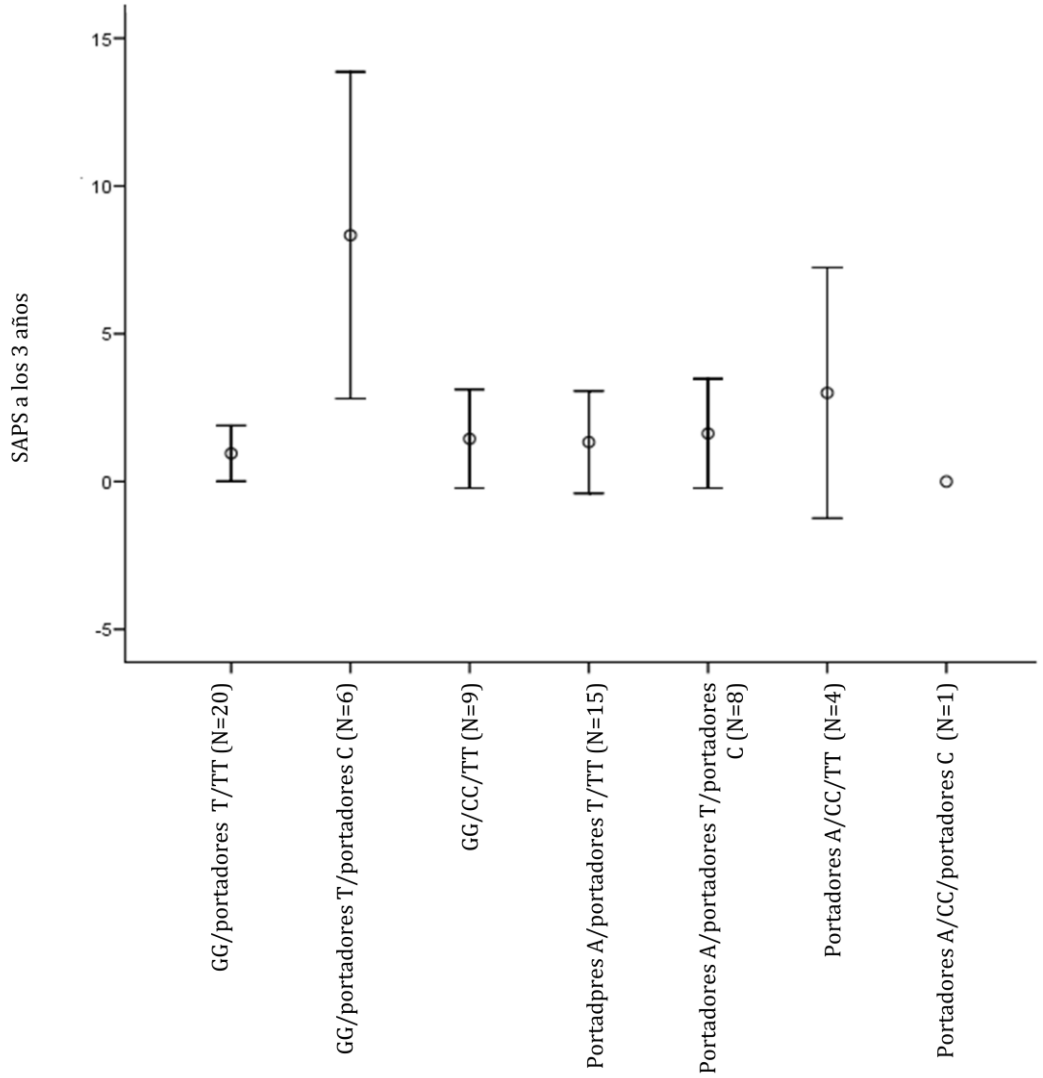


Figura 4. Interacción entre los polimorfismos rs1049353, rs1535255 y rs2023239 del CNR1 en las puntuaciones de SAPS después de tres años de un primer episodio de psicosis. Las barras de error representan +/- 1SE (Error estándar). Abreviaturas: SAPS: Escala de evaluación de síntomas positivos. G= guanina, A = adenina, T = timina, C = citosina. (Adaptada de figura suplementaria 1 del artículo 3)

Rs1049353 Rs1535255 Rs2023239	G/G				Portadores de A			
	Portadores de T		CC		Portadores de T		C/C	
	T/T (*n*=19) media (SD)	T/C (*n*=5) media (SD)	T/T (*n*=9) media (SD)	T/C (*n*=0)	T/T (*n*=14) media (SD)	T/C (*n*=8) media (SD)	T/T (*n*=4) media (SD)	T/C (*n*=1) media
SAPS inicial	13.79 (5.26)	13.00 (2.00)	15.11 (3.95)		15.43 (4.64)	13.87 (2.59)	13.00 (5.23)	14.00
SAPS 3 años	0.53 (0.96)	10.00 (6.04)	1.44 (2.51)		1.43 (3.46)	1.63 (2.61)	3.00 (4.24)	0.00
BMI inicial (kg/m²)	24.25 (3.54)	23.59 (1.79)	23.66 (3.60)		24.44 (3.41)	23.11 (2.30)	21.83 (3.68)	22.33
BMI 3 años (kg/m²)	28.59 (5.47)	27.92 (4.53)	27.10 (4.60)		27.77 (2.89)	26.64 (3.76)	24.24 (1.91)	30.82
SANS inicial	5.89 (5.57)	10.20 (3.03)	8.00 (6.06)		7.64 (5.43)	7.00 (5.26)	3.75 (4.50)	2.00
SANS 3 años	3.21 (4.54)	8.00 (5.87)	5.00 (6.40)		1.29 (2.36)	4.63 (6.12)	0.25 (0.50)	7.00

Tabla 1. Interacciones entre los polimorfismos rs1049353, rs1535255 y rs2023239 del gen CNR1 en IMC y la sintomatología clínica al inicio de la psicosis, al cabo de tres años y a lo largo del periodo de seguimiento. Abreviaturas: ANCOVA = análisis de la covarianza; IMC= índice de masa corporal; SAPS = escala de evaluación de síntomas positivos; SANS = escala de evaluación de síntomas negativos; A = adenina; C = citosina; G = guanina; T = timina (Adaptada de tabla suplementaria 3 del artículo 3).

6. PUBLICACIONES

CNR1 SNP	Genetic model	Genotype	OR (95% IC)	*p*-value	AIC
rs1049353	Dominant	G/G	1.00	0.590	67.17
		A_carriers (A/G or A/A)	1.43 (0.39-5.22)		
	Recessive	G_carriers (G/G or A/A)	1.00	0.980	67.47
		A/A	0.98 (0.10-9.19)		
	Additive	--	1.46 (0.40-5.37)	0.570	67.37
rs1535255	Dominant	T/T	1.00	0.150	65.37
		C_carriers (C/T or C/C)	0.38 (0.10-1.44)		
	Recessive	T_carriers (T/T or C/T)	1.00	0.039	63.27
		C/C	0.00 (0.00-Inf)		
	Additive	--	0.82 (0.21-3.12)	0.770	63.87
rs2023239	--	T/T	1.00	0.065	64.00
		C/T	3.50 (0.92-13.18)		

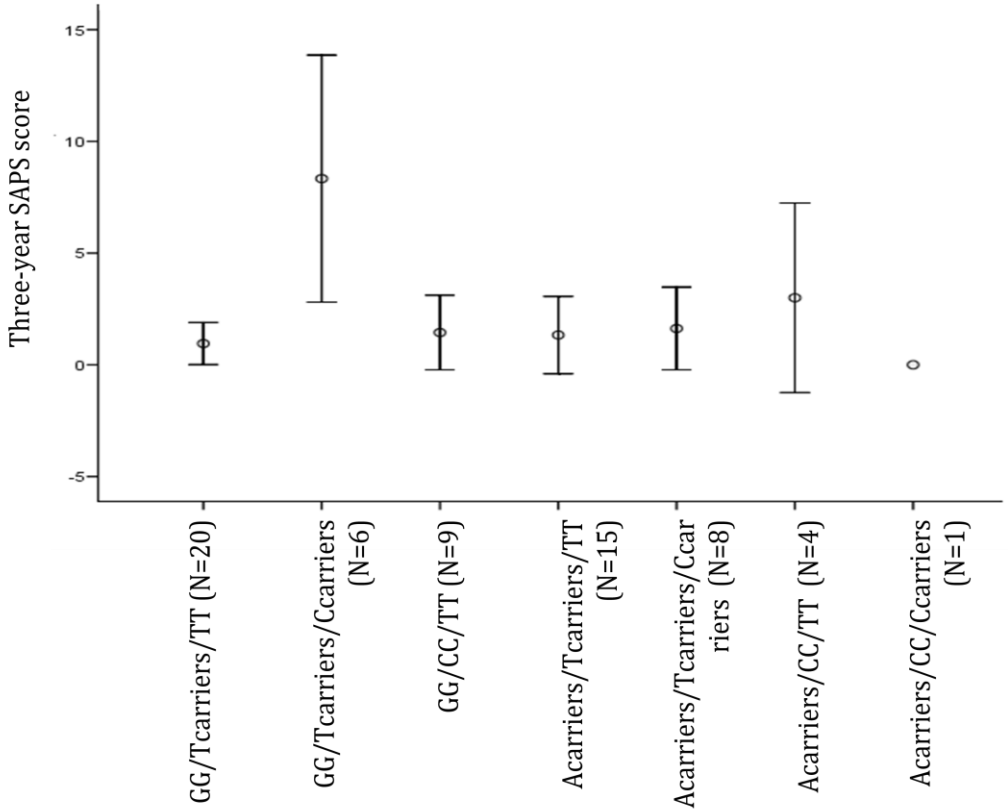
Table S1. Genotypic associations under dominant, recessive and additive models. Abbreviations: AIC = Akaike information value; CI = confidence interval; OR = odds ratio; A = adenine; C = cytosine; G = guanine; T = thymine.

Rs1049353 Rs1535255 Rs2023239	G/G				A carriers				ANCOVA *F[1, 56]; p*		Interaction time by SNP combinations *F[1, 56]; p*
	T carriers		CC		T carriers		C/C				
	T/T (*n*=19) mean (SD)	T/C (*n*=5) mean (SD)	T/T (*n*=9) mean (SD)	T/C (*n*=0)	T/T (*n*=14) mean (SD)	T/C (*n*=8) mean (SD)	T/T (*n*=4) mean (SD)	T/C (*n*=1) mean			
Surface area baseline	168258.67 (13553.30)	180060.19 (25179.13)	173468.01 (24,373.32)		177604.50 (13882.54)	171670.78 (19877.42)	162507.48 (13706.77)	179119.46	0.78;	0.593	0.91; 0.495
Surface area 3 years	167160.31 (13412.70)	176178.72 (21265.19)	169983.97 (24228.85)		174726.91 (13762.11)	168076.08 (20974.57)	163824.51 (18649.67)	177706.52	0.57;	0.755	
Cortical depth baseline	4.03 (0.46)	4.00 (0.49)	3.90 (0.40)		3.95 (0.40)	4.00 (0.29)	3.93 (0.42)	3.94	0.19;	0.978	0.29; 0.941
Cortical depth 3 years	2.02 (0.18)	1.97 (0.19)	1.99 (0.16)		1.96 (0.13)	2.00 (0.21)	1.88 (0.23)	2.18	0.97;	0.453	
Total brain volumen baseline	1263.15 (93.97)	1334.99 (186.17)	1300.56 (173.41)		1336.83 (111.52)	1262.24 (147.58)	1260.51 (147.58)	1419.08	1.13;	0.356	0.62; 0.715
Total brain volumen 3 years	1250.25 (104.43)	1324.46 (180.97)	1289.76 (178.85)		1325.84 (127.84)	1247.74 (137.06)	1257.00 (80.32)	1388.36	0.37;	0.892	
GM volumen baseline	765.53 (66.64)	818.13 (123.76)	776.22 (106.17)		802.91 (75.32)	768.19 (95.42)	753.45 (87.12)	820.58	0.63;	0.708	0.45; 0.841
GM volumen 3 years	755.24 (68.84)	794.19 (110.50)	762.89 (106.41)		793.94 (70.30)	758.31 (93.65)	734.74 (65.34)	809.99	0.73;	0.626	
WM volumen baseline	497.62 (53.27)	516.87 (69.47)	524.34 (88.32)		533.92 (56.25)	494.05 (58.76)	507.05 (20.60)	598.49	0.51;	0.798	0.50; 0.803
WM volumen 3 years	495.02 (56.00)	530.27 (71.20)	526.87 (65.61)		531.90 (65.16)	489.43 (50.58)	522.26 (33.40)	578.37	0.64;	0.697	
CSF baseline	46.38 (19.86)	49.77 (21.20)	50.92 (26.58)		61.46 (16.49)	48.40 (25.63)	48.23 (28.55)	25.7	1.37;	0.245	1.28; 0.236
CSF 3 years	53.66 (32.40)	50.70 (26.75)	53.97 (29.90)		68.27 (25.49)	48.75 (30.35)	51.56 (33.49)	25.63	0.51;	0.801	
VL baseline	14.06 (5.41)	15.44 (6.88)	13.65 (10.44)		14.60 (5.33)	13.80 (4.19)	17.77 (12.79)	17.63	0.45;	0.841	0.88; 0.528
VL 3 years	14.28 (5.71)	15.83 (7.65)	13.07 (9.27)		14.88 (5.56)	14.62 (6.34)	19.32 (25.50)	18.07	0.51;	0.801	
Thalamus baseline	11.58 (1.25)	12.49 (1.64)	12.06 (1.37)		12.67 (1.23)	11.76 (1.76)	11.06 (1.29)	12.30	0.56;	0.761	0.62; 0.713
Thalamus 3 years	11.28 (1.19)	12.08 (1.66)	11.75 (1.64)		12.18 (0.96)	10.78 (1.56)	10.88 (0.93)	11.40	0.96;	0.462	
Caudate baseline	5.31 (0.65)	5.30 (0.77)	5.64 (0.61)		5.79 (0.81)	5.92 (1.27)	5.13 (0.92)	5.13	1.41;	0.229	0.73; 0.627
Caudate 3 years	5.20 (0.66)	5.23 (0.81)	5.58 (0.68)		5.56 (0.85)	5.66 (1.17)	4.91 (0.97)	4.58	1.29;	0.278	

Supplementary table 2. Interactions between rs1049353, rs1535255 and rs2023239 CNR1 polymorphisms on brain volume (cm^3) and area (cm^2) in non-affective psychosis patients (*n*=65) at baseline and three-year follow-up**.** Abbreviations: ANCOVA = analysis of co-variance; BMI = body mass index; CScerebrospinal fluid; GM= grey matter; LV= lateral ventricle; SAPS = scale for assessment of positive symptoms; SANS: = scale for assessment of negative symptoms; WM=white matter; A = adenine; C = cytosine; G = guanine; T = thymine.

Rs1049353	G/G				A carriers			
Rs1535255	T carriers		CC		T carriers		C/C	
Rs2023239	T/T (*n*=19) mean (SD)	T/C (*n*=5) mean (SD)	T/T (*n*=9) mean (SD)	T/C (*n*=0)	T/T (*n*=14) mean (SD)	T/C (*n*=8) mean (SD)	T/T (*n*=4) mean (SD)	T/C (*n*=1) mean
SAPS baseline	13.79 (5.26)	13.00 (2.00)	15.11 (3.95)		15.43 (4.64)	13.87 (2.59)	13.00 (5.23)	14.00
SAPS 3 years	0.53 (0.96)	10.00 (6.04)	1.44 (2.51)		1.43 (3.46)	1.63 (2.61)	3.00 (4.24)	0.00
BMI baseline (kg/m^2)	24.25 (3.54)	23.59 (1.79)	23.66 (3.60)		24.44 (3.41)	23.11 (2.30)	21.83 (3.68)	22.33
BMI 3 years (kg/m^2)	28.59 (5.47)	27.92 (4.53)	27.10 (4.60)		27.77 (2.89)	26.64 (3.76)	24.24 (1.91)	30.82
SANS baseline	5.89 (5.57)	10.20 (3.03)	8.00 (6.06)		7.64 (5.43)	7.00 (5.26)	3.75 (4.50)	2.00
SANS 3 years	3.21 (4.54)	8.00 (5.87)	5.00 (6.40)		1.29 (2.36)	4.63 (6.12)	0.25 (0.50)	7.00

Supplementary table 3. Interactions between rs1049353, rs1535255 and rs2023239 CNR1 polymorphisms on BMI and clnical psychopathology in non-affective psychosis patients (*n*=65) at baseline and three-year follow-up**.** Abbreviations: ANCOVA = analysis of co-variance; BMI = body mass index; CScerebrospinal fluid; GM= grey matter; LV= lateral ventricle; SAPS = scale for assessment of positive symptoms; SANS = scale for assessment of negative symptoms; WM=white matter; A = adenine; C = cytosine; G = guanine; T = thymine.



Supplementary figure 1. Interaction between rs1049353, rs1535255 and rs2023239 CNR1 polymorphisms on SAPS scores adter three years. Error bars represent +/-1SE (Standard error). SAPS: Scale of Assessment of Positive Symptoms; A=adenine; C=cytosine; G=guanine; T=thymine

7. DISCUSION

7.1. Alteraciones morfométricas cerebrales en primeros episodios de psicosis y su relación con polimorfismos de los genes BDNF, NRG1 y CNR1

Los estudios transversales presentados en el presente trabajo hallaron alteraciones en el volumen cerebral en una muestra de pacientes con un primer episodio de trastornos del espectro de la esquizofrenia asociados a variaciones en algunos de los polimorfismos de los genes NRG1 y CNR1. Los pacientes, comparados con sujetos sanos, mostraron alteraciones en los análisis transversales al cabo de tres años asociados a variaciones en los polimorfismos SNP8NRG221533 del gen NRG1 y rs2023239 del gen CNR1. En pacientes tras un primer episodio del espectro de esquizofrenia, se encontró un aumento de los VL y un menor volumen de la SB relacionado con la presencia del alelo de riesgo C del SNP8NRG221533; así como un menor volumen del núcleo caudado en los que expresan TC del polimorfismo rs2023239 al cabo de tres años de enfermedad. Sin embargo, no se encontraron anomalías asociadas al polimorfismo BDNF Val66Met.

Por otra parte, los estudios longitudinales no encontraron asociación entre el BDNF Val66Met y alteraciones morfométricas progresivas cerebrales. Sin embrago, se observó una asociación significativa entre los cambios progresivos del volumen de los VL y el polimorfismo SNP8NRG221533 del gen NRG1. Los pacientes portadores del alelo de riesgo C presentaron un incremento del volumen de los VL a lo largo del período de seguimiento de tres años. En los pacientes con psicosis no afectiva también se observó que variantes en polimorfismos del gen CNR1 podían estar involucradas en cambios en la estructura cerebral durante el estudio longitudinal de tres años. En concreto, los pacientes que expresan el alelo A en rs1049353 y la combinación TC en rs2023239 se asociaron con una reducción progresiva de los volúmenes del núcleo caudado y del tálamo respectivamente.

El efecto de las variaciones en el BDNF Val66Met sobre la estructura cerebral no queda aclarado en la literatura científica. Varias líneas de investigación evidencian que el alelo Met podría ser un factor de riesgo para las psicosis no afectivas (319-321); sin embargo, su implicación en alteraciones morfométricas ofrece resultados contradictorios. Estudios de RMN transversales han descrito volúmenes más pequeños de SG en portadores del alelo Met en comparación con los individuos homocigotos para Val, tanto en estudios que exploran pacientes con esquizofrenia (322) como en controles sanos (290, 291, 323, 324). Tampoco quedan claras las implicaciones del polimorfismo del BDNF en la progresión de las anomalías cerebrales. Sólo tres estudios publicados previos exploraron la asociación longitudinal entre este polimorfismo y alteraciones en la neuroimagen de pacientes tras PEP. Así, el grupo de Ho y colaboradores observaron una pérdida progresiva de la SG frontal durante el seguimiento (298). En contraste con esto, dos estudios posteriores del grupo de no encontraron ninguna relación entre el polimorfismo Val66Met y los cambios en la morfología cerebral a lo largo de uno (296) y tres años (325). Koolschijn y sus colaboradores, en el 2011, no encontraron asociación entre los cambios en la SG y el polimorfismo en una muestra de pacientes con esquizofrenia durante tres años de seguimiento (325). El grupo de Smith encontró que los pacientes con un PEP que eran homocigotos para el alelo Val presentaban un menor volumen del hipocampo que en los sujetos sanos homocigotos para Val sin existir diferencias en los que portaban el alelo Met. Sin embrago, no encontraron cambios en el volumen del hipocampo durante un año de seguimiento (296). Los resultados de nuestro trabajo podrían estar en consonancia con los estudios de Koolchijn y Smith (296, 325). Así mismo, el metaanálisis de Molendijk puede estar también relacionado con nuestros resultados. Este metaánalisis encontró una asociación entre el volumen del hipocampo y el polimorfismo BDNF Val66Met (293) en una revisión de 25 estudios que contemplaron esta relación; sin embrago, sus autores señalaron que los estudios incluidos tenían muy poca potencia y dudaron que el

efecto observado fuese un auténtico efecto biológico del alelo Met, sino más bien un sesgo de publicación de resultados positivos, con unos grandes tamaños del efecto en los primeros estudios y tamaños cada vez más pequeños, cercanos al cero, en estudios posteriores más recientes.

En cuanto al polimorfismo del gen NRG1, SNP8NRG221533, a los tres años, encontramos una diferencia significativa entre el volumen de los VL y diferencias en el genotipo. Los pacientes portadores del alelo C tenían un volumen de VL 28,6% superior que los pacientes homocigotos para el alelo T, y un volumen 66,2% mayor que los sujetos sanos. Igualmente, también al cabo de tres años, los pacientes portadores del alelo de riesgo C tenían un volumen de la SB 4.3% menor en comparación con aquellos pacientes homocigotos para el alelo T, y una reducción del volumen de SB del 5,4% en contraste con individuos sanos. Esta es la primera vez que se analizan los efectos longitudinales del gen NRG1 sobre la estructura cerebral. Como posible explicación a nuestros hallazgos, la participación de las variaciones del gen NRG1 en la migración celular del SNC constituye un mecanismo plausible por el cual este polimorfismo puede influir en el volumen de los VL y la SB. De esta manera, diferentes isoformas del gen NRG1 están implicadas en el proceso de mielinización, migración y la diferenciación de oligodendrocitos (326-329) y modulan el crecimiento de las espinas dendríticas, encargadas de las sinapsis (330). Teniendo en cuenta la relación entre la alteración en la densidad de oligodendrocitos de la corteza prefrontal e hipocampo especialmente y la disminución de la SB en algunos pacientes con esquizofrenia (331-334), se puede especular que la pérdida de volumen de SB en los pacientes que portaban el alelo de riesgo C del polimorfismo SNP8NRG221533 de NRG1 puede estar relacionada con una alteración espacial de los oligodendrocitos, que así mismo causaría un agrandamiento progresivo de los VL a lo largo del tiempo. Una posible explicación podría ser que alteraciones

de la sustancia blanca durante el proceso de desarrollo del cerebro pudieran dar lugar a una reducción en el tejido cerebral y como consecuencia un aumento de los VL. Estos cambios pueden causar alteraciones en la función dopaminérgica y en el comportamiento, que son relevantes en varios trastornos neuropsiquiátricos (334). Cabe destacar que estudios previos de RMN han destacado asociaciones entre variaciones genéticas en NRG1 y los hallazgos clásicos de la neuroimagen en esquizofrenia. Por ejemplo, los estudios de haplotipos de deCODE Genetics (ICE), que incluyen el polimorfismo SNP8NRG221533, han demostrado una asociación con una menor SB (299) y un menor volumen del hipocampo (335) en pacientes con esquizofrenia. Un estudio anterior de nuestro grupo refuerza la hipótesis de implicación de la NRG1, encontrando una asociación entre el alelo de riesgo del polimorfismo SNP8NRG243177 y la dilatación de los VL en el momento de inicio de la enfermedad, en sujetos mínimamente medicados (300). También basándose en el polimorfismo SNP8NRG243177, el grupo de McIntosh informó sobre una asociación con la reducción de la densidad de la SB de la capsula interna en sujetos sanos (336). El SNP8NRG222622 es otro polimorfismo asociado en la literatura con una disminución de la SB de la circunvolución temporal izquierda en aquellos pacientes con esquizofrenia homocigotos para el alelo de riesgo (337). Sin embargo, Dutt y sus compañeros no encontraron ninguna influencia del gen NRG1 u otros genes candidatos en los volúmenes de los LV y del hipocampo, utilizando pacientes con trastorno bipolar y la esquizofrenia, en el momento de inicio de la enfermedad (294). Un estudio postmortem tampoco detectó diferencias en los patrones de expresión del SNP8NRG221533 en el córtex prefrontal de pacientes con esquizofrenia (184). Estas contradicciones sugieren que ciertos polimorfismos del gen NRG1, como el SNP8NRG221533, podrían determinar cambios cerebrales longitudinales en los pacientes con psicosis, pero estos SNPs no tienen porqué ser los mismos que causen alteraciones estructurales transversales.

La presencia de la expresión gen CNR1 en el cerebro es alta durante la gestación (338) y juega un papel importante en la función cerebral y el desarrollo del mismo (339). Curiosamente, la proteína codificada CNR1 tiene un efecto apoptótico y da lugar a reducciones del volumen de SG en trastornos neurodegenerativos (340) y del volumen de SB en pacientes con esquizofrenia que fumaban cannabis (301). Estos hallazgos son consistentes con las hipótesis clásicas que sugieren que la esquizofrenia es un trastorno progresivo del neurodesarrollo (341, 342). Por otra parte, a juzgar por los resultados del presente trabajo, el consumo de cannabis puede atenuar los déficits estructurales del cerebro asociados a los polimorfismos rs2023239 y rs15352255. Clásicamente, el consumo de cannabis se ha asociado con la etiología y progresión de la esquizofrenia (343). Sin embargo, los efectos del cannabis sobre las áreas clave del cerebro involucradas en la esquizofrenia son complejos y no están claros (344). Algunos estudios han sugerido que la combinación entre los efectos genéticos y la exposición al cannabis media las pérdidas de volumen cerebral que pueden aparecer en la esquizofrenia (345). Sin embrago y más acorde con nuestros resultados, una revisión sistemática de la literatura mostró que las anormalidades estructurales cerebrales en general, no se han asociado con el uso crónico de cannabis (346).

7.2. Polimorfismos de BDNF, NRG1 y CNR1 y su relación con las características clínicas y su progresión en primeros episodios de psicosis

En el caso del polimorfismo BDNF Val66Met, el déficit de la funcionalidad fue similar en los pacientes portadores del alelo Met y los pacientes homocigotos Val después de 3 años de seguimiento. Tampoco había ninguna relación significativa entre cambios de volumen cerebral a través del tiempo y la funcionalidad. Estos datos apoyan la hipótesis de que los cambios cerebrales progresivos en psicosis se asocian a una mayor vulnerabilidad e impacto de la enfermedad y consecuentemente a una peor funcionalidad (347, 348). Como hallazgos

incidentales, nuestros datos socio-demográficos sugieren que los portadores de alelo Met presentaban tasas significativamente más altas de consumo de alcohol, aunque diferencia sólo fue estadísticamente significativa en el grupo de sujetos sanos. El polimorfismo Val66Met puede tener una relación con la dependencia de alcohol (349). Este hallazgo es consistente con otros estudios que observan que el polimorfismo Val66Met es una parte de una ruta homeostática que regula el consumo de alcohol (350) según la función del BDNF en la regulación de la vía dopaminérgica (351, 352), lo que puede contribuir a la adicción a sustancias psicoactivas en el SNC según el refuerzo de la neurotransmisión dopaminérgica.

En el estudio del gen NRG1, como hallazgo incidental, se encontró una tasa más alta de consumo de cannabis en pacientes homocigotos para el alelo T del SNP8NRG221533 en comparación con los pacientes portadores del alelo de riesgo, C. Investigaciones recientes, basadas en ratones, han evidenciado interacciones complejas entre el cannabis y el gen NRG1 (353, 354) y un papel de gen NRG1 en la tolerancia a los cannabinoides (355). Pese a todo esto, no se puede concluir que existe una asociación entre el cannabis y NRG1 en nuestros datos, debido a la pérdida de significación cuando la muestra se limita a aquellos pacientes que cumplen criterios de esquizofrenia seis meses después.

Por otra parte, en el estudio de los polimorfismos del gen CNR1 encontramos que los pacientes TT del polimorfismo rs2023239 presentaban una mejora significativa en los síntomas positivos (medidos con la escala SAPS) y síntomas negativos (medidos con la escala SANS) de la esquizofrenia al cabo de un seguimiento de tres años. Cabe destacar que no existían hasta ahora publicaciones sobre el papel del gen CNR1 en la sintomatología clínica de la esquizofrenia. Sin embargo, otros estudios basados en depresión han demostrado que las variantes CNR1 están asociados con la remisión de los síntomas depresivos después de tan sólo 12 semanas (247). Otros trabajos anteriores sobre pacientes con esquizofrenia en

relación a variaciones del polimorfismo rs2023239 encuentran una asociación significativa con la respuesta al abandono del consumo de cannabis (356), la impulsividad (244) y el síndrome metabólico (357). Este polimorfismo también se ha asociado con síndrome metabólico en la población general (358, 359). Por otro lado, la interacción de variaciones en los tres SNPs estudiados (aquellos homocigotos para el alelo G en rs1049353, que además expresaban el alelo T en riesgo para el rs1535255 y expresaban TC para el polimorfismo rs20233239) produjo puntuaciones significativamente superiores en la sintomatología positiva después de tres años en comparación con el resto de los pacientes. Esto debe investigarse más a fondo ya que esta combinación genética parece conducir a una peor evolución de la enfermedad, en cuanto a la permanencia de los síntomas positivos. Finalmente, encontramos una asociación significativa entre polimorfismo rs1049353 y el IMC, existiendo una interacción con el consumo de cannabis. Los pacientes no fumadores de cannabis que expresan el alelo A presentaban un IMC inferior en el momento inicial y un menor cambio en el IMC después Esto es parcialmente apoyado por otros estudios sobre el polimorfismo rs1049253 y su potencial papel en la pérdida de peso en pacientes obesos (360) y en su protección sobre el síndrome metabólico (361, 362).

7.3. Factores de confusión, limitaciones y fortaleza del estudio

Algunos de los principales factores de confusión asociados a los estudios de RMN en esquizofrenia son el tamaño muestral, la raza, la medicación antipsicótica, nutrición, estímulos sociales y ambientales, consumo de sustancias, estilo de vida, etc. Estos factores podrían, en parte, motivar las discrepancias entre estudios. Diferencias en la metodología empleada podría ser también un factor a tener en cuenta a la hora de explicar dichas inconsistencias.

La fidelidad en las medidas morfométricas obtenidas mediante RM puede estar influenciada por diferentes fuentes de varianza (363). Así, la fiabilidad puede ser afectada por factores

relacionados al propio sujeto, como la hidratación (364), al escáner, tales como la fuerza del campo magnético, el tipo de escáner, el gradiente magnético o la secuencia utilizada (363). Factores relacionados con el procesamiento de las imágenes, tales como el software, la versión y los parámetros utilizados en el análisis también están relacionados con la fiabilidad de las medidas (365, 366).

Para poder interpretar correctamente los resultados, se hace necesario tener en cuenta una serie de limitaciones. En primer lugar, el tamaño muestral, pese a ser similar al utilizado en la mayoría de estudios de RMN, aún puede considerarse pequeño y podría haber limitado nuestro poder estadístico. En segundo lugar, no disponíamos de datos a nivel del hipocampo, que ha sido fuertemente asociados con el gen BDNF en trabajos anteriores (291, 296-298, 322). Esto es debido a que el uso de una metodología basada en regiones de interés imposibilita detectar alteraciones en otras zonas más específicas; desafortunadamente, el índice de reproducibilidad (intraclase R) para el hipocampo con el software BRAINS2 es muy bajo (0,35 para el hipocampo izquierdo y 0,50 para el hipocampo derecho). El hecho de trabajar con SNPs de aislada puede asociarse a algunos inconvenientes: diferentes genes pueden interactuar entre sí formando una compleja red de interacciones genéticas, que no pueden ser caracterizadas con el análisis de un sólo SNP. Este procedimiento se somete a muchos análisis por comparaciones múltiples que muchas veces no permiten identificar las interacciones geno-ambientales (367). Además, estos polimorfismos podrían no constituir el factor causal real y representar asociaciones de otros polimorfismos en desequilibrio de ligamiento con este locus. Por lo tanto, estos resultados deben ser considerados con cautela y replicación necesidad en muestras más grandes.

La medicación antipsicótica también puede considerarse una limitación. A pesar de que el tiempo trascurrido entre el inicio del tratamiento antipsicótico y la realización de la primera

RM fue corto (30.1 días en el caso de la muestra del artículo 1, 31.6 días de media en el caso de la muestra de sujetos del artículo 2 y 31.9 días de media en el caso de la muestra del artículo 3), la exposición acumulada a antipsicóticos puede haber producido alteraciones tanto volumétricas como de grosor cortical en el cerebro. Sin embargo, en todos los se introducía la medicación en dosis acumuladas de clorpromazina como covariable.

A pesar de estas limitaciones el uso de un mismo escáner y protocolo de adquisición, la utilización de un riguroso y fiable método de procesamiento de imágenes, la realización de las RM de seguimiento en un intervalo uniforme, y un seguimiento clínico y cognitivo exhaustivo aportan solidez a las conclusiones derivadas de este estudio. Entre los puntos fuertes del presente estudio vale la pena señalar que, para subsanar en lo posible el relativamente pequeño tamaño muestral, se llevo a cabo un diseño longitudinal durante 3 años de seguimiento con al menos dos períodos de tiempo de medida de variables es una prueba robusta para evitar asociaciones causales entre los sujetos y requiere un menor número de individuos para alcanzar la significación estadística que un diseño completamente al azar (368).

Es importante mencionar que este es el primer estudio que relaciona las variaciones en polimorfismos de la NRG1 y la neuroimagen de forma longitudinal, y que demuestra una asociación entre la evolución de los síntomas en la esquizofrenia y los polimorfismos CNR1.

7.4. Líneas de mejora y perspectivas

Tanto los datos bibliográficos existentes, como los datos experimentales presentados en esta tesis, sugieren que variaciones en polimorfismos genéticos tienen una influencia en la estructura cerebral de los pacientes con un episodio de psicosis no afectiva. Sin embargo, el papel exacto de estos polimorfismos no está del todo claro. Cabe señalar que los factores

neurotróficos son proteínas diana que promueven la supervivencia y diferenciación de neuronas (369) y por ello, el estudio del efecto de sus genes en el cerebro podría complementarse con la investigación de la microestructura cerebral utilizando estimulación magnética transcraneal (EMT), el flujo sanguíneo cerebral, análisis de conectividad funcional y de las funciones cognitivas.

Es importante mencionar que el análisis de la neuroimagen en esquizofrenia es poco específico y esto provoca que los resultados obtenidos puedan ser difíciles de interpretar. Por ello, es interesante realizar estudios que incluyan grandes cohortes independientes para definir el papel de las mutaciones en estos genes y la susceptibilidad para la esquizofrenia. Estos general, estos resultados replicarse en estudios de imagen cerebral con mayor tamaño muestral. Diferentes polimorfismos de estos genes y otros genes relacionados con la plasticidad y sinapsis deben ser incluidos en análisis futuros.

En cuanto al consumo de cannabis, los análisis se realizaron sobre la variable dicotómica "consumo" (SI/NO) sin tener en cuenta el patrón de consumo o la cantidad. Sería interesante evaluar parámetros clave que pueden influir en las respuestas posteriores, tales como las diferencias en la edad de la exposición, la severidad de abuso y dependencia (370).

Otra línea de investigación interesante en este campo puede ser el análisis de otros polimorfismos del CNR1 y productos génicos relacionados con la vía endocanabinoide para dilucidar el papel de este sistema y del consumo de cannabis en la esquizofrenia.

8. CONCLUSIONES / CONCLUSIONS

1. Contrario a lo esperado, variaciones en el polimorfismo BDNF Val66Met no se asocian a alteraciones morfológicas cerebrales en pacientes con un primer episodio de psicosis no afectiva. Es necesario seguir trabajando para examinar cómo interacciones de epistasis genéticas pueden producir alteraciones en las estructuras cerebrales que se asocian a los trastornos psicóticos. Diferentes polimorfismos del gen BDNF y otros genes relacionados con la plasticidad y la sinapsis deben ser incluidos en futuros estudios.

In contrast to our spectations, BDNF Val66Met polymorphism variations are not associated to brain morphological alterations in patients with a first episode of non-affective psichosis. Further work is needed to examine how specific genetic epistasis interactions may produce alterations in brain structures that accompany psychotic disorders. Different BDNF polymorphisms and other synaptic plasticity-related genes should be included in future analyses.

2. Variaciones en el gen NRG1 y en el gen CNR1 se asocian a alteraciones en la estructura cerebral durante el seguimiento de pacientes tras un primer episodio de psicosis no afectiva. Esta relación puede explicar, en parte, las anomalías morfológicas cerebrales asociadas a la psicosis y su posible relación con genes involucrados en las vías de desarrollo cerebral.

Variations in NRG1 and CNR1 gene are associated with alterations in brain structure during the follow-up of patients after a first episode of non-affective psychosis. This relationship may explain, at least in part, brain morphological abnormalities associated with psychosis and its possible link to involved genes in neurodevelopment pathways.

3. El alelo de riesgo C del SNP8NRG221533 del gen NRG1 contribuye al aumento de tamaño de los ventrículos laterales y a una disminución de la sustancia blanca, hallazgos comúnmente observados durante el curso temprano de la esquizofrenia.

The *C* risk allele of SNP8NRG221533 within NRG1 gene can contribute to the increased lateral ventricle volume and to decreased white matter volume, commonly observed in schizophrenia at early phases of the illness.

4. Variantes específicas en el gen CNR1 influyen en cambios fisiopatológicos de pacientes con un primer episodio de psicosis no afectiva, como el IMC y la sintomatología clínica.

Specific CNR1 gene variants influence over phisiopathological changes in patients with a first episode of non affective psichosis, such as BMI and clinical symptoms.

5. Factores modificables como el consumo de cannabis, pueden explicar, al menos en parte, las anomalías estructurales encontradas en las primeras fases de la enfermedad, ya que los usuarios de esta droga mostraron menor número de cambios cerebrales asociados a variaciones en el gen CNR1.

Modified factors such as cannabis use, may explain, partly, structural abnormalities during early stages of the disease. Cannabis users showed less structural changes associated to CNR1 genetic variations.

6. Globalmente considerados, estos resultados sugieren un posible papel para el gen CNR1 y el gen NRG1 en la fisiopatología de la esquizofrenia. Esto podría conducir a la identificación de nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento de pacientes que sufren un primer episodio de psicosis no afectiva

Overall, these results suggest a possible role for CNR1 and NRG1 genes in the pathophysiology of schizophrenia. This could lead to the identification of new drug targets in the treatment of patients suffering a first episode of non- affective psychosis.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Andreasen NC. Positive vs. negative schizophrenia: a critical evaluation. Schizophr Bull. 1985;11(3):380-9.
2. Association AP. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.). Arlington, VA: American Psychiatric Publishing. 2013.
3. World Health Organization The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: Clinical descriptions and diagnostic guidelines. Geneva: World Health Organization. 1992.
4. Weinberger DR. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 1987 Jul;44(7):660-9.
5. Fatemi SH, Folsom TD. The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia, revisited. Schizophr Bull. 2009 May;35(3):528-48.
6. van Os J, Kapur S. [Psychosis: from diagnosis to syndrome]. Ned Tijdschr Geneeskd. 2010;154:A1874.
7. Meyer-Lindenberg A. Imaging genetics of schizophrenia. Dialogues Clin Neurosci. 2010;12(4):449-56.
8. Maynard TM, Sikich L, Lieberman JA, LaMantia AS. Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia. Schizophr Bull. 2001;27(3):457-76.
9. Keshavan MS, Berger G, Zipursky RB, Wood SJ, Pantelis C. Neurobiology of early psychosis. Br J Psychiatry Suppl. 2005 Aug;48:s8-18.
10. Mane A. Neurodesarrollo o neurodegeneraciòn? Estado actual. Psiquiatria Biologica. 2013 Oct;20(3):35-9.
11. Zipursky RB, Reilly TJ, Murray RM. The myth of schizophrenia as a progressive brain disease. Schizophr Bull. 2013 Nov;39(6):1363-72.
12. Sullivan P, Owen M, O'Donovan M, Freedman M. Genetics. En: Lieberman JA, Stroup TS, Perkins DO The American Psychiatric Publishing Textbook of Schizophrenia Washington: American Psychiatric Publishing. 2006:39-53.
13. Seeman P. Targeting the dopamine D2 receptor in schizophrenia. Expert Opin Ther Targets. 2006 Aug;10(4):515-31.
14. Baumeister AA, Francis JL. Historical development of the dopamine hypothesis of schizophrenia. J Hist Neurosci. 2002 Sep;11(3):265-77.
15. Ross CA, Margolis RL, Reading SA, Pletnikov M, Coyle JT. Neurobiology of schizophrenia. Neuron. 2006 Oct 5;52(1):139-53.
16. Pacheco A, Raventós Hv, Nº. 3 (p.p. 467-473). Genética de la esquizofrenia: avances en el estudio de genes candidatos. Rev Biol Trop, San Jose
2004 Apr 20;52(3):467-73.
17. Wilson JM, Sanyal S, Van Tol HH. Dopamine D2 and D4 receptor ligands: relation to antipsychotic action. Eur J Pharmacol. 1998 Jun 26;351(3):273-86.
18. Vallone D, Picetti R, Borrelli E. Structure and function of dopamine receptors. Neurosci Biobehav Rev. 2000 Jan;24(1):125-32.
19. Bastianetto S, Danik M, Mennicken F, Williams S, Quirion R. Prototypical antipsychotic drugs protect hippocampal neuronal cultures against cell death induced by growth medium deprivation. BMC Neurosci. 2006;7:28.

20. Giannini A, Nageotte C, Loiselle R, Malone D, Price W. Comparison of chlorpromazine, haloperidol and pimozide in the treatment of phencyclidine psychosis: DA-2 receptor specificity. J Toxicol Clin Toxicol 1984-1985 Jan;22:573-9.
21. Patil ST, Zhang L, Martenyi F, Lowe SL, Jackson KA, Andreev BV, et al. Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. Nat Med. 2007 Sep;13(9):1102-7.
22. Seeman P. Glutamate agonists for schizophrenia stimulate dopamine D2High receptors. Schizophr Res. 2008 Feb;99(1-3):373-4.
23. Akhondzadeh S. The 5-HT hypothesis of schizophrenia. IDrugs. 2001 Mar;4(3):295-300.
24. Dean B. A predicted cortical serotonergic/cholinergic/GABAergic interface as a site of pathology in schizophrenia. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2001 Jan-Feb;28(1-2):74-8.
25. Meltzer HY. Genetics and etiology of schizophrenia and bipolar disorder. Biol Psychiatry. 2000 Feb 1;47(3):171-3.
26. Harrison PJ, Owen MJ. Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. Lancet. 2003 Feb 1;361(9355):417-9.
27. Gottesman I, Bertelsen A-. Confirming unexpressed genotypes for schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 1989;46:867-72.
28. Kringlen E. Twin studies in schizophrenia with special emphasis on concordance figures. Am J Med Genet. 2000 Spring;97(1):4-11.
29. Gejman P, Sanders A. La etiología de la esquizofrenia. Rev Medicina. 2012 Sep 19;72:227-34.
30. Antonarakis SE. Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. Nomenclature Working Group. Hum Mutat. 1998;11(1):1-3.
31. Yarnell WS, Roberts JW. Mechanism of intrinsic transcription termination and antitermination. Science. 1999 Apr 23;284(5414):611-5.
32. Schork NJ, Fallin D, Lanchbury JS. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. Clin Genet. 2000 Oct;58(4):250-64.
33. Wang DG, Fan JB, Siao CJ, Berno A, Young P, Sapolsky R, et al. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. Science. 1998 May 15;280(5366):1077-82.
34. Nebert DW, Ingelman-Sundberg M, Daly AK. Genetic epidemiology of environmental toxicity and cancer susceptibility: human allelic polymorphisms in drug-metabolizing enzyme genes, their functional importance, and nomenclature issues. Drug Metab Rev. 1999 May;31(2):467-87.
35. Cargill M, Altshuler D, Ireland J, Sklar P, Ardlie K, Patil N, et al. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. Nat Genet. 1999 Jul;22(3):231-8.
36. King MC, Wilson AC. Evolution at two levels in humans and chimpanzees. Science. 1975 Apr 11;188(4184):107-16.
37. Nelson DR. Cytochrome P450 and the individuality of species. Arch Biochem Biophys. 1999 Sep 1;369(1):1-10.

38. Shapiro JA. Genome system architecture and natural genetic engineering in evolution. Ann N Y Acad Sci. 1999 May 18;870:23-35.
39. Halushka MK, Fan JB, Bentley K, Hsie L, Shen N, Weder A, et al. Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood-pressure homeostasis. Nat Genet. 1999 Jul;22(3):239-47.
40. Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington H, et al. Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene X environment interaction. Biol Psychiatry. 2005 May 15;57(10):1117-27.
41. Zammit S, Spurlock G, Williams H, Norton N, Williams N, O'Donovan MC, et al. Genotype effects of CHRNA7, CNR1 and COMT in schizophrenia: interactions with tobacco and cannabis use. Br J Psychiatry. 2007 Nov;191:402-7.
42. Pelayo-Teran JM, Crespo-Facorro B, Carrasco-Marin E, Perez-Iglesias R, Mata I, Arranz MJ, et al. Catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism and clinical characteristics in first episode non-affective psychosis. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2008 Jul 5;147B(5):550-6.
43. Norton N, Williams HJ, Dwyer S, Carroll L, Peirce T, Moskvina V, et al. Association analysis of AKT1 and schizophrenia in a UK case control sample. Schizophr Res. 2007 Jul;93(1-3):58-65.
44. Ayalew M, Le-Niculescu H, Levey DF, Jain N, Changala B, Patel SD, et al. Convergent functional genomics of schizophrenia: from comprehensive understanding to genetic risk prediction. Mol Psychiatry. 2012 Sep;17(9):887-905.
45. Ishizuka K, Kamiya A, Oh EC, Kanki H, Seshadri S, Robinson JF, et al. DISC1-dependent switch from progenitor proliferation to migration in the developing cortex. Nature. 2011 May 5;473(7345):92-6.
46. Ayhan Y, Abazyan B, Nomura J, Kim R, Ladenheim B, Krasnova IN, et al. Differential effects of prenatal and postnatal expressions of mutant human DISC1 on neurobehavioral phenotypes in transgenic mice: evidence for neurodevelopmental origin of major psychiatric disorders. Mol Psychiatry. 2011 Mar;16(3):293-306.
47. Clapcote SJ, Lipina TV, Millar JK, Mackie S, Christie S, Ogawa F, et al. Behavioral phenotypes of Disc1 missense mutations in mice. Neuron. 2007 May 3;54(3):387-402.
48. Hikida T, Jaaro-Peled H, Seshadri S, Oishi K, Hookway C, Kong S, et al. Dominant-negative DISC1 transgenic mice display schizophrenia-associated phenotypes detected by measures translatable to humans. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Sep 4;104(36):14501-6.
49. Duan X, Chang JH, Ge S, Faulkner RL, Kim JY, Kitabatake Y, et al. Disrupted-In-Schizophrenia 1 regulates integration of newly generated neurons in the adult brain. Cell. 2007 Sep 21;130(6):1146-58.
50. Koike H, Arguello PA, Kvajo M, Karayiorgou M, Gogos JA. Disc1 is mutated in the 129S6/SvEv strain and modulates working memory in mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Mar 7;103(10):3693-7.
51. Kvajo M, McKellar H, Arguello PA, Drew LJ, Moore H, MacDermott AB, et al. A mutation in mouse Disc1 that models a schizophrenia risk allele leads to specific alterations in neuronal architecture and cognition. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 May 13;105(19):7076-81.

52. Shen S, Lang B, Nakamoto C, Zhang F, Pu J, Kuan SL, et al. Schizophrenia-related neural and behavioral phenotypes in transgenic mice expressing truncated Disc1. J Neurosci. 2008 Oct 22;28(43):10893-904.
53. Pletnikov MV, Ayhan Y, Xu Y, Nikolskaia O, Ovanesov M, Huang H, et al. Enlargement of the lateral ventricles in mutant DISC1 transgenic mice. Mol Psychiatry. 2008 Feb;13(2):115.
54. Pletnikov MV, Ayhan Y, Nikolskaia O, Xu Y, Ovanesov MV, Huang H, et al. Inducible expression of mutant human DISC1 in mice is associated with brain and behavioral abnormalities reminiscent of schizophrenia. Mol Psychiatry. 2008 Feb;13(2):173-86, 15.
55. Chiba S, Hashimoto R, Hattori S, Yohda M, Lipska B, Weinberger DR, et al. Effect of antipsychotic drugs on DISC1 and dysbindin expression in mouse frontal cortex and hippocampus. J Neural Transm. 2006 Sep;113(9):1337-46.
56. Schurov IL, Handford EJ, Brandon NJ, Whiting PJ. Expression of disrupted in schizophrenia 1 (DISC1) protein in the adult and developing mouse brain indicates its role in neurodevelopment. Mol Psychiatry. 2004 Dec;9(12):1100-10.
57. Le-Niculescu H, Balaraman Y, Patel S, Tan J, Sidhu K, Jerome RE, et al. Towards understanding the schizophrenia code: an expanded convergent functional genomics approach. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2007 Mar 5;144B(2):129-58.
58. Palo OM, Antila M, Silander K, Hennah W, Kilpinen H, Soronen P, et al. Association of distinct allelic haplotypes of DISC1 with psychotic and bipolar spectrum disorders and with underlying cognitive impairments. Hum Mol Genet. 2007 Oct 15;16(20):2517-28.
59. Potkin SG, Macciardi F, Guffanti G, Fallon JH, Wang Q, Turner JA, et al. Identifying gene regulatory networks in schizophrenia. Neuroimage. 2010 Nov 15;53(3):839-47.
60. Schumacher J, Laje G, Abou Jamra R, Becker T, Muhleisen TW, Vasilescu C, et al. The DISC locus and schizophrenia: evidence from an association study in a central European sample and from a meta-analysis across different European populations. Hum Mol Genet. 2009 Jul 15;18(14):2719-27.
61. Glessner JT, Reilly MP, Kim CE, Takahashi N, Albano A, Hou C, et al. Strong synaptic transmission impact by copy number variations in schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Jun 8;107(23):10584-9.
62. Green EK, Grozeva D, Sims R, Raybould R, Forty L, Gordon-Smith K, et al. DISC1 exon 11 rare variants found more commonly in schizoaffective spectrum cases than controls. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2011 Jun;156B(4):490-2.
63. Liu YL, Fann CS, Liu CM, Chen WJ, Wu JY, Hung SI, et al. A single nucleotide polymorphism fine mapping study of chromosome 1q42.1 reveals the vulnerability genes for schizophrenia, GNPAT and DISC1: Association with impairment of sustained attention. Biol Psychiatry. 2006 Sep 15;60(6):554-62.
64. Greenwood TA, Lazzeroni LC, Murray SS, Cadenhead KS, Calkins ME, Dobie DJ, et al. Analysis of 94 candidate genes and 12 endophenotypes for schizophrenia from the Consortium on the Genetics of Schizophrenia. Am J Psychiatry. 2011 Sep;168(9):930-46.
65. Hennah W, Thomson P, McQuillin A, Bass N, Loukola A, Anjorin A, et al. DISC1 association, heterogeneity and interplay in schizophrenia and bipolar disorder. Mol Psychiatry. 2009 Sep;14(9):865-73.

66. Callicott JH, Straub RE, Pezawas L, Egan MF, Mattay VS, Hariri AR, et al. Variation in DISC1 affects hippocampal structure and function and increases risk for schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Jun 14;102(24):8627-32.
67. Nakata K, Lipska BK, Hyde TM, Ye T, Newburn EN, Morita Y, et al. DISC1 splice variants are upregulated in schizophrenia and associated with risk polymorphisms. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Sep 15;106(37):15873-8.
68. Olincy A, House R, Gao B, Recksiek P, Phang TL, Sullivan B, et al. Elevated DISC1 transcript levels in PBMCs during acute psychosis in patients with schizophrenia. Transl Biomed. 2011;2(1).
69. Ouchi Y, Kubota Y, Kuramasu A, Watanabe T, Ito C. Gene expression profiling in whole cerebral cortices of phencyclidine- or methamphetamine-treated rats. Brain Res Mol Brain Res. 2005 Oct 31;140(1-2):142-9.
70. Fatemi SH, Pearce DA, Brooks AI, Sidwell RW. Prenatal viral infection in mouse causes differential expression of genes in brains of mouse progeny: a potential animal model for schizophrenia and autism. Synapse. 2005 Aug;57(2):91-9.
71. Baruch K, Silberberg G, Aviv A, Shamir E, Bening-Abu-Shach U, Baruch Y, et al. Association between golli-MBP and schizophrenia in the Jewish Ashkenazi population: are regulatory regions involved? Int J Neuropsychopharmacol. 2009 Aug;12(7):885-94.
72. Tkachev D, Mimmack ML, Ryan MM, Wayland M, Freeman T, Jones PB, et al. Oligodendrocyte dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. Lancet. 2003 Sep 6;362(9386):798-805.
73. Glatt SJ, Stone WS, Nossova N, Liew CC, Seidman LJ, Tsuang MT. Similarities and differences in peripheral blood gene-expression signatures of individuals with schizophrenia and their first-degree biological relatives. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2011 Dec;156B(8):869-87.
74. Brzozka MM, Radyushkin K, Wichert SP, Ehrenreich H, Rossner MJ. Cognitive and sensorimotor gating impairments in transgenic mice overexpressing the schizophrenia susceptibility gene Tcf4 in the brain. Biol Psychiatry. 2010 Jul 1;68(1):33-40.
75. Lennertz L, Rujescu D, Wagner M, Frommann I, Schulze-Rauschenbach S, Schuhmacher A, et al. Novel schizophrenia risk gene TCF4 influences verbal learning and memory functioning in schizophrenia patients. Neuropsychobiology. 2011;63(3):131-6.
76. Li T, Li Z, Chen P, Zhao Q, Wang T, Huang K, et al. Common variants in major histocompatibility complex region and TCF4 gene are significantly associated with schizophrenia in Han Chinese. Biol Psychiatry. 2010 Oct 1;68(7):671-3.
77. Quednow BB, Ettinger U, Mossner R, Rujescu D, Giegling I, Collier DA, et al. The schizophrenia risk allele C of the TCF4 rs9960767 polymorphism disrupts sensorimotor gating in schizophrenia spectrum and healthy volunteers. J Neurosci. 2011 May 4;31(18):6684-91.
78. Stefansson H, Ophoff RA, Steinberg S, Andreassen OA, Cichon S, Rujescu D, et al. Common variants conferring risk of schizophrenia. Nature. 2009 Aug 6;460(7256):744-7.
79. Mudge J, Miller NA, Khrebtukova I, Lindquist IE, May GD, Huntley JJ, et al. Genomic convergence analysis of schizophrenia: mRNA sequencing reveals altered synaptic vesicular transport in post-mortem cerebellum. PLoS One. 2008;3(11):e3625.

80. Brennand KJ, Simone A, Jou J, Gelboin-Burkhart C, Tran N, Sangar S, et al. Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. Nature. 2011 May 12;473(7346):221-5.
81. Kurian SM, Le-Niculescu H, Patel SD, Bertram D, Davis J, Dike C, et al. Identification of blood biomarkers for psychosis using convergent functional genomics. Mol Psychiatry. 2011 Jan;16(1):37-58.
82. Lowe XR, Lu X, Marchetti F, Wyrobek AJ. The expression of Troponin T1 gene is induced by ketamine in adult mouse brain. Brain Res. 2007 Oct 12;1174:7-17.
83. Takahashi Y, Kumanishi T, Hayashi S. Using a DNA microarray method to examine gene expression in brain from clozapine-injected mice. Ann N Y Acad Sci. 2004 Oct;1025:561-9.
84. Matsuoka T, Tsunoda M, Sumiyoshi T, Takasaki I, Tabuchi Y, Seo T, et al. Effect of MK-801 on gene expressions in the amygdala of rats. Synapse. 2008 Jan;62(1):1-7.
85. Lewis CM, Levinson DF, Wise LH, DeLisi LE, Straub RE, Hovatta I, et al. Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. Am J Hum Genet. 2003 Jul;73(1):34-48.
86. Mitkus SN, Hyde TM, Vakkalanka R, Kolachana B, Weinberger DR, Kleinman JE, et al. Expression of oligodendrocyte-associated genes in dorsolateral prefrontal cortex of patients with schizophrenia. Schizophr Res. 2008 Jan;98(1-3):129-38.
87. Bowden NA, Weidenhofer J, Scott RJ, Schall U, Todd J, Michie PT, et al. Preliminary investigation of gene expression profiles in peripheral blood lymphocytes in schizophrenia. Schizophr Res. 2006 Feb 28;82(2-3):175-83.
88. Wood GK, Tomasiewicz H, Rutishauser U, Magnuson T, Quirion R, Rochford J, et al. NCAM-180 knockout mice display increased lateral ventricle size and reduced prepulse inhibition of startle. Neuroreport. 1998 Feb 16;9(3):461-6.
89. Atz ME, Rollins B, Vawter MP. NCAM1 association study of bipolar disorder and schizophrenia: polymorphisms and alternatively spliced isoforms lead to similarities and differences. Psychiatr Genet. 2007 Apr;17(2):55-67.
90. Chan MK, Tsang TM, Harris LW, Guest PC, Holmes E, Bahn S. Evidence for disease and antipsychotic medication effects in post-mortem brain from schizophrenia patients. Mol Psychiatry. 2011 Dec;16(12):1189-202.
91. Ji B, La Y, Gao L, Zhu H, Tian N, Zhang M, et al. A comparative proteomics analysis of rat mitochondria from the cerebral cortex and hippocampus in response to antipsychotic medications. J Proteome Res. 2009 Jul;8(7):3633-41.
92. Washizuka S, Kametani M, Sasaki T, Tochigi M, Umekage T, Kohda K, et al. Association of mitochondrial complex I subunit gene NDUFV2 at 18p11 with schizophrenia in the Japanese population. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2006 Apr 5;141B(3):301-4.
93. Niculescu AB, 3rd, Segal DS, Kuczenski R, Barrett T, Hauger RL, Kelsoe JR. Identifying a series of candidate genes for mania and psychosis: a convergent functional genomics approach. Physiol Genomics. 2000 Nov 9;4(1):83-91.
94. Prabakaran S, Swatton JE, Ryan MM, Huffaker SJ, Huang JT, Griffin JL, et al. Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: evidence for compromised brain metabolism and oxidative stress. Mol Psychiatry. 2004 Jul;9(7):684-97, 43.

95. Ben-Shachar D, Karry R. Sp1 expression is disrupted in schizophrenia; a possible mechanism for the abnormal expression of mitochondrial complex I genes, NDUFV1 and NDUFV2. PLoS One. 2007;2(9):e817.
96. Moy SS, Nonneman RJ, Young NB, Demyanenko GP, Maness PF. Impaired sociability and cognitive function in Nrcam-null mice. Behav Brain Res. 2009 Dec 14;205(1):123-31.
97. Ekelund J, Lichtermann D, Hovatta I, Ellonen P, Suvisaari J, Terwilliger JD, et al. Genome-wide scan for schizophrenia in the Finnish population: evidence for a locus on chromosome 7q22. Hum Mol Genet. 2000 Apr 12;9(7):1049-57.
98. Roussos P, Katsel P, Davis KL, Bitsios P, Giakoumaki SG, Jogia J, et al. Molecular and genetic evidence for abnormalities in the nodes of Ranvier in schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2012 Jan;69(1):7-15.
99. Schwarz E, Guest PC, Rahmoune H, Harris LW, Wang L, Leweke FM, et al. Identification of a biological signature for schizophrenia in serum. Mol Psychiatry. 2012 May;17(5):494-502.
100. Maziade M, Roy MA, Chagnon YC, Cliche D, Fournier JP, Montgrain N, et al. Shared and specific susceptibility loci for schizophrenia and bipolar disorder: a dense genome scan in Eastern Quebec families. Mol Psychiatry. 2005 May;10(5):486-99.
101. Faraone SV, Matise T, Svrakic D, Pepple J, Malaspina D, Suarez B, et al. Genome scan of European-American schizophrenia pedigrees: results of the NIMH Genetics Initiative and Millennium Consortium. Am J Med Genet. 1998 Jul 10;81(4):290-5.
102. Takahashi S, Faraone SV, Lasky-Su J, Tsuang MT. Genome-wide scan of homogeneous subtypes of NIMH genetics initiative schizophrenia families. Psychiatry Res. 2005 Feb 28;133(2-3):111-22.
103. Freedman R, Leonard S, Olincy A, Kaufmann CA, Malaspina D, Cloninger CR, et al. Evidence for the multigenic inheritance of schizophrenia. Am J Med Genet. 2001 Dec 8;105(8):794-800.
104. Straub RE, MacLean CJ, Ma Y, Webb BT, Myakishev MV, Harris-Kerr C, et al. Genome-wide scans of three independent sets of 90 Irish multiplex schizophrenia families and follow-up of selected regions in all families provides evidence for multiple susceptibility genes. Mol Psychiatry. 2002;7(6):542-59.
105. Chu TT, Liu Y, Kemether E. Thalamic transcriptome screening in three psychiatric states. J Hum Genet. 2009 Nov;54(11):665-75.
106. Kuzman MR, Medved V, Terzic J, Krainc D. Genome-wide expression analysis of peripheral blood identifies candidate biomarkers for schizophrenia. J Psychiatr Res. 2009 Sep;43(13):1073-7.
107. Hashimoto R, Hashimoto H, Shintani N, Chiba S, Hattori S, Okada T, et al. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is associated with schizophrenia. Mol Psychiatry. 2007 Nov;12(11):1026-32.
108. Koga M, Ishiguro H, Horiuchi Y, Inada T, Ujike H, Itokawa M, et al. Replication study of association between ADCYAP1 gene polymorphisms and schizophrenia. Psychiatr Genet. 2010 Jun;20(3):123-5.
109. Sommer JU, Schmitt A, Heck M, Schaeffer EL, Fendt M, Zink M, et al. Differential expression of presynaptic genes in a rat model of postnatal hypoxia: relevance to schizophrenia. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2010 Nov;260 Suppl 2:S81-9.

110. Grottick AJ, Bagnol D, Phillips S, McDonald J, Behan DP, Chalmers DT, et al. Neurotransmission- and cellular stress-related gene expression associated with prepulse inhibition in mice. Brain Res Mol Brain Res. 2005 Sep 13;139(1):153-62.
111. Pillai A, Mahadik SP. Increased truncated TrkB receptor expression and decreased BDNF/TrkB signaling in the frontal cortex of reeler mouse model of schizophrenia. Schizophr Res. 2008 Mar;100(1-3):325-33.
112. Kaiser S, Foltz LA, George CA, Kirkwood SC, Bemis KG, Lin X, et al. Phencyclidine-induced changes in rat cortical gene expression identified by microarray analysis: implications for schizophrenia. Neurobiol Dis. 2004 Jun;16(1):220-35.
113. Guo C, Yang Y, Su Y, Si T. Postnatal BDNF expression profiles in prefrontal cortex and hippocampus of a rat schizophrenia model induced by MK-801 administration. J Biomed Biotechnol. 2010;2010:783297.
114. Chao HM, Kao HT, Porton B. BDNF Val66Met variant and age of onset in schizophrenia. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2008 Jun 5;147B(4):505-6.
115. Gratacos M, Gonzalez JR, Mercader JM, de Cid R, Urretavizcaya M, Estivill X. Brain-derived neurotrophic factor Val66Met and psychiatric disorders: meta-analysis of case-control studies confirm association to substance-related disorders, eating disorders, and schizophrenia. Biol Psychiatry. 2007 Apr 1;61(7):911-22.
116. Suchanek R, Owczarek A, Kowalski J. Association study between BDNF C-281A polymorphism and paranoid schizophrenia in Polish population. J Mol Neurosci. 2012 Jan;46(1):217-22.
117. Decoster J, van Os J, Kenis G, Henquet C, Peuskens J, De Hert M, et al. Age at onset of psychotic disorder: cannabis, BDNF Val66Met, and sex-specific models of gene-environment interaction. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2011 Apr;156B(3):363-9.
118. Torrey EF, Barci BM, Webster MJ, Bartko JJ, Meador-Woodruff JH, Knable MB. Neurochemical markers for schizophrenia, bipolar disorder, and major depression in postmortem brains. Biol Psychiatry. 2005 Feb 1;57(3):252-60.
119. Pillai A. Decreased expression of Sprouty2 in the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia and bipolar disorder: a correlation with BDNF expression. PLoS One. 2008;3(3):e1784.
120. Rizos EN, Papathanasiou M, Michalopoulou PG, Mazioti A, Douzenis A, Kastania A, et al. Association of serum BDNF levels with hippocampal volumes in first psychotic episode drug-naive schizophrenic patients. Schizophr Res. 2011 Jul;129(2-3):201-4.
121. Grillo RW, Ottoni GL, Leke R, Souza DO, Portela LV, Lara DR. Reduced serum BDNF levels in schizophrenic patients on clozapine or typical antipsychotics. J Psychiatr Res. 2007 Jan-Feb;41(1-2):31-5.
122. Miodownik C, Maayan R, Ratner Y, Lerner V, Pintov L, Mar M, et al. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor and cortisol to sulfate of dehydroepiandrosterone molar ratio associated with clinical response to L-theanine as augmentation of antipsychotic therapy in schizophrenia and schizoaffective disorder patients. Clin Neuropharmacol. 2011 Jul-Aug;34(4):155-60.

123. Haller J, Szirmai M, Varga B, Ledent C, Freund TF. Cannabinoid CB1 receptor dependent effects of the NMDA antagonist phencyclidine in the social withdrawal model of schizophrenia. Behav Pharmacol. 2005 Sep;16(5-6):415-22.
124. 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. Mol Psychiatry. 2002;7(5):515-8.
125. Xu B, Woodroffe A, Rodriguez-Murillo L, Roos JL, van Rensburg EJ, Abecasis GR, et al. Elucidating the genetic architecture of familial schizophrenia using rare copy number variant and linkage scans. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Sep 29;106(39):16746-51.
126. Eggan SM, Hashimoto T, Lewis DA. Reduced cortical cannabinoid 1 receptor messenger RNA and protein expression in schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2008 Jul;65(7):772-84.
127. Babovic D, O'Tuathaigh CM, O'Connor AM, O'Sullivan GJ, Tighe O, Croke DT, et al. Phenotypic characterization of cognition and social behavior in mice with heterozygous versus homozygous deletion of catechol-O-methyltransferase. Neuroscience. 2008 Sep 9;155(4):1021-9.
128. Huotari M, Garcia-Horsman JA, Karayiorgou M, Gogos JA, Mannisto PT. D-amphetamine responses in catechol-O-methyltransferase (COMT) disrupted mice. Psychopharmacology (Berl). 2004 Feb;172(1):1-10.
129. Jurata LW, Gallagher P, Lemire AL, Charles V, Brockman JA, Illingworth EL, et al. Altered expression of hippocampal dentate granule neuron genes in a mouse model of human 22q11 deletion syndrome. Schizophr Res. 2006 Dec;88(1-3):251-9.
130. Shifman S, Bronstein M, Sternfeld M, Pisante-Shalom A, Lev-Lehman E, Weizman A, et al. A highly significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. Am J Hum Genet. 2002 Dec;71(6):1296-302.
131. Abdolmaleky HM, Cheng KH, Faraone SV, Wilcox M, Glatt SJ, Gao F, et al. Hypomethylation of MB-COMT promoter is a major risk factor for schizophrenia and bipolar disorder. Hum Mol Genet. 2006 Nov 1;15(21):3132-45.
132. Ortega-Alvaro A, Aracil-Fernandez A, Garcia-Gutierrez MS, Navarrete F, Manzanares J. Deletion of CB2 cannabinoid receptor induces schizophrenia-related behaviors in mice. Neuropsychopharmacology. 2011 Jun;36(7):1489-504.
133. Liu W, Downing AC, Munsie LM, Chen P, Reed MR, Ruble CL, et al. Pharmacogenetic analysis of the mGlu2/3 agonist LY2140023 monohydrate in the treatment of schizophrenia. Pharmacogenomics J. 2012 Jun;12(3):246-54.
134. McClay JL, Adkins DE, Aberg K, Bukszar J, Khachane AN, Keefe RS, et al. Genome-wide pharmacogenomic study of neurocognition as an indicator of antipsychotic treatment response in schizophrenia. Neuropsychopharmacology. 2011 Feb;36(3):616-26.
135. Zhan L, Kerr JR, Lafuente MJ, Maclean A, Chibalina MV, Liu B, et al. Altered expression and coregulation of dopamine signalling genes in schizophrenia and bipolar disorder. Neuropathol Appl Neurobiol. 2011 Feb;37(2):206-19.
136. Dean B, Pavey G, Scarr E, Goeringer K, Copolov DL. Measurement of dopamine D2-like receptors in postmortem CNS and pituitary: differential regional changes in schizophrenia. Life Sci. 2004 May 7;74(25):3115-31.

137. Chen XW, Feng YQ, Hao CJ, Guo XL, He X, Zhou ZY, et al. DTNBP1, a schizophrenia susceptibility gene, affects kinetics of transmitter release. J Cell Biol. 2008 Jun 2;181(5):791-801.
138. Feng YQ, Zhou ZY, He X, Wang H, Guo XL, Hao CJ, et al. Dysbindin deficiency in sandy mice causes reduction of snapin and displays behaviors related to schizophrenia. Schizophr Res. 2008 Dec;106(2-3):218-28.
139. Hattori S, Murotani T, Matsuzaki S, Ishizuka T, Kumamoto N, Takeda M, et al. Behavioral abnormalities and dopamine reductions in sdy mutant mice with a deletion in Dtnbp1, a susceptibility gene for schizophrenia. Biochem Biophys Res Commun. 2008 Aug 22;373(2):298-302.
140. Takao K, Toyama K, Nakanishi K, Hattori S, Takamura H, Takeda M, et al. Impaired long-term memory retention and working memory in sdy mutant mice with a deletion in Dtnbp1, a susceptibility gene for schizophrenia. Mol Brain. 2008;1:11.
141. Voisey J, Swagell CD, Hughes IP, Lawford BR, Young RM, Morris CP. Analysis of HapMap tag-SNPs in dysbindin (DTNBP1) reveals evidence of consistent association with schizophrenia. Eur Psychiatry. 2010 Oct;25(6):314-9.
142. Rethelyi JM, Bakker SC, Polgar P, Czobor P, Strengman E, Pasztor PI, et al. Association study of NRG1, DTNBP1, RGS4, G72/G30, and PIP5K2A with schizophrenia and symptom severity in a Hungarian sample. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2010 Apr 5;153B(3):792-801.
143. Schwab SG, Knapp M, Mondabon S, Hallmayer J, Borrmann-Hassenbach M, Albus M, et al. Support for association of schizophrenia with genetic variation in the 6p22.3 gene, dysbindin, in sib-pair families with linkage and in an additional sample of triad families. Am J Hum Genet. 2003 Jan;72(1):185-90.
144. Fatjo-Vilas M, Papiol S, Estrada G, Bombin I, Peralta V, Rosa A, et al. Dysbindin-1 gene contributes differentially to early- and adult-onset forms of functional psychosis. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2011 Apr;156B(3):322-33.
145. Fallin MD, Lasseter VK, Avramopoulos D, Nicodemus KK, Wolyniec PS, McGrath JA, et al. Bipolar I disorder and schizophrenia: a 440-single-nucleotide polymorphism screen of 64 candidate genes among Ashkenazi Jewish case-parent trios. Am J Hum Genet. 2005 Dec;77(6):918-36.
146. Kirov G, Ivanov D, Williams NM, Preece A, Nikolov I, Milev R, et al. Strong evidence for association between the dystrobrevin binding protein 1 gene (DTNBP1) and schizophrenia in 488 parent-offspring trios from Bulgaria. Biol Psychiatry. 2004 May 15;55(10):971-5.
147. Weickert CS, Straub RE, McClintock BW, Matsumoto M, Hashimoto R, Hyde TM, et al. Human dysbindin (DTNBP1) gene expression in normal brain and in schizophrenic prefrontal cortex and midbrain. Arch Gen Psychiatry. 2004 Jun;61(6):544-55.
148. Talbot K, Eidem WL, Tinsley CL, Benson MA, Thompson EW, Smith RJ, et al. Dysbindin-1 is reduced in intrinsic, glutamatergic terminals of the hippocampal formation in schizophrenia. J Clin Invest. 2004 May;113(9):1353-63.
149. Weickert CS, Rothmond DA, Hyde TM, Kleinman JE, Straub RE. Reduced DTNBP1 (dysbindin-1) mRNA in the hippocampal formation of schizophrenia patients. Schizophr Res. 2008 Jan;98(1-3):105-10.

150. Talbot K, Louneva N, Cohen JW, Kazi H, Blake DJ, Arnold SE. Synaptic dysbindin-1 reductions in schizophrenia occur in an isoform-specific manner indicating their subsynaptic location. PLoS One. 2011;6(3):e16886.
151. Chagnon YC, Roy MA, Bureau A, Merette C, Maziade M. Differential RNA expression between schizophrenic patients and controls of the dystrobrevin binding protein 1 and neuregulin 1 genes in immortalized lymphocytes. Schizophr Res. 2008 Mar;100(1-3):281-90.
152. Bullock WM, Cardon K, Bustillo J, Roberts RC, Perrone-Bizzozero NI. Altered expression of genes involved in GABAergic transmission and neuromodulation of granule cell activity in the cerebellum of schizophrenia patients. Am J Psychiatry. 2008 Dec;165(12):1594-603.
153. Straub RE, Lipska BK, Egan MF, Goldberg TE, Callicott JH, Mayhew MB, et al. Allelic variation in GAD1 (GAD67) is associated with schizophrenia and influences cortical function and gene expression. Mol Psychiatry. 2007 Sep;12(9):854-69.
154. Hakak Y, Walker JR, Li C, Wong WH, Davis KL, Buxbaum JD, et al. Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Apr 10;98(8):4746-51.
155. Hashimoto T, Bazmi HH, Mirnics K, Wu Q, Sampson AR, Lewis DA. Conserved regional patterns of GABA-related transcript expression in the neocortex of subjects with schizophrenia. Am J Psychiatry. 2008 Apr;165(4):479-89.
156. Benes FM, Lim B, Matzilevich D, Subburaju S, Walsh JP. Circuitry-based gene expression profiles in GABA cells of the trisynaptic pathway in schizophrenics versus bipolars. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Dec 30;105(52):20935-40.
157. Mirnics K, Middleton FA, Marquez A, Lewis DA, Levitt P. Molecular characterization of schizophrenia viewed by microarray analysis of gene expression in prefrontal cortex. Neuron. 2000 Oct;28(1):53-67.
158. Akbarian S, Huang HS. Molecular and cellular mechanisms of altered GAD1/GAD67 expression in schizophrenia and related disorders. Brain Res Rev. 2006 Sep;52(2):293-304.
159. Heckers S, Stone D, Walsh J, Shick J, Koul P, Benes FM. Differential hippocampal expression of glutamic acid decarboxylase 65 and 67 messenger RNA in bipolar disorder and schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2002 Jun;59(6):521-9.
160. Guidotti A, Auta J, Davis JM, Di-Giorgi-Gerevini V, Dwivedi Y, Grayson DR, et al. Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a postmortem brain study. Arch Gen Psychiatry. 2000 Nov;57(11):1061-9.
161. Impagnatiello F, Guidotti AR, Pesold C, Dwivedi Y, Caruncho H, Pisu MG, et al. A decrease of reelin expression as a putative vulnerability factor in schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 Dec 22;95(26):15718-23.
162. Costa E, Davis J, Grayson DR, Guidotti A, Pappas GD, Pesold C. Dendritic spine hypoplasticity and downregulation of reelin and GABAergic tone in schizophrenia vulnerability. Neurobiol Dis. 2001 Oct;8(5):723-42.

163. Woo TU, Walsh JP, Benes FM. Density of glutamic acid decarboxylase 67 messenger RNA-containing neurons that express the N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2A in the anterior cingulate cortex in schizophrenia and bipolar disorder. Arch Gen Psychiatry. 2004 Jul;61(7):649-57.
164. Veldic M, Caruncho HJ, Liu WS, Davis J, Satta R, Grayson DR, et al. DNA-methyltransferase 1 mRNA is selectively overexpressed in telencephalic GABAergic interneurons of schizophrenia brains. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Jan 6;101(1):348-53.
165. Veldic M, Guidotti A, Maloku E, Davis JM, Costa E. In psychosis, cortical interneurons overexpress DNA-methyltransferase 1. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Feb 8;102(6):2152-7.
166. Wiedholz LM, Owens WA, Horton RE, Feyder M, Karlsson RM, Hefner K, et al. Mice lacking the AMPA GluR1 receptor exhibit striatal hyperdopaminergia and 'schizophrenia-related' behaviors. Mol Psychiatry. 2008 Jun;13(6):631-40.
167. Toyooka K, Iritani S, Makifuchi T, Shirakawa O, Kitamura N, Maeda K, et al. Selective reduction of a PDZ protein, SAP-97, in the prefrontal cortex of patients with chronic schizophrenia. J Neurochem. 2002 Nov;83(4):797-806.
168. Magri C, Gardella R, Barlati SD, Podavini D, Iatropoulos P, Bonomi S, et al. Glutamate AMPA receptor subunit 1 gene (GRIA1) and DSM-IV-TR schizophrenia: a pilot case-control association study in an Italian sample. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2006 Apr 5;141B(3):287-93.
169. Leon CA, Schumacher J, Kluck N, Herold C, Schulze TG, Propping P, et al. Association study of the GRIA1 and CLINT1 (Epsin 4) genes in a German schizophrenia sample. Psychiatr Genet. 2011 Apr;21(2):114.
170. Dracheva S, Davis KL, Chin B, Woo DA, Schmeidler J, Haroutunian V. Myelin-associated mRNA and protein expression deficits in the anterior cingulate cortex and hippocampus in elderly schizophrenia patients. Neurobiol Dis. 2006 Mar;21(3):531-40.
171. Stadler F, Kolb G, Rubusch L, Baker SP, Jones EG, Akbarian S. Histone methylation at gene promoters is associated with developmental regulation and region-specific expression of ionotropic and metabotropic glutamate receptors in human brain. J Neurochem. 2005 Jul;94(2):324-36.
172. Sokolov BP. Expression of NMDAR1, GluR1, GluR7, and KA1 glutamate receptor mRNAs is decreased in frontal cortex of "neuroleptic-free" schizophrenics: evidence on reversible up-regulation by typical neuroleptics. J Neurochem. 1998 Dec;71(6):2454-64.
173. Ibrahim HM, Hogg AJ, Jr., Healy DJ, Haroutunian V, Davis KL, Meador-Woodruff JH. Ionotropic glutamate receptor binding and subunit mRNA expression in thalamic nuclei in schizophrenia. Am J Psychiatry. 2000 Nov;157(11):1811-23.
174. Bowden NA, Scott RJ, Tooney PA. Altered gene expression in the superior temporal gyrus in schizophrenia. BMC Genomics. 2008;9:199.
175. Steward LJ, Kennedy MD, Morris BJ, Pratt JA. The atypical antipsychotic drug clozapine enhances chronic PCP-induced regulation of prefrontal cortex 5-HT2A receptors. Neuropharmacology. 2004 Sep;47(4):527-37.
176. Polesskaya OO, Sokolov BP. Differential expression of the "C" and "T" alleles of the 5-HT2A receptor gene in the temporal cortex of normal individuals and schizophrenics. J Neurosci Res. 2002 Mar 15;67(6):812-22.

177. Garbett K, Gal-Chis R, Gaszner G, Lewis DA, Mirnics K. Transcriptome alterations in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia who committed suicide. Neuropsychopharmacol Hung. 2008 Mar;10(1):9-14.
178. Fukuda Y, Koga M, Arai M, Noguchi E, Ohtsuki T, Horiuchi Y, et al. Monoallelic and unequal allelic expression of the HTR2A gene in human brain and peripheral lymphocytes. Biol Psychiatry. 2006 Dec 15;60(12):1331-5.
179. Chen YJ, Johnson MA, Lieberman MD, Goodchild RE, Schobel S, Lewandowski N, et al. Type III neuregulin-1 is required for normal sensorimotor gating, memory-related behaviors, and corticostriatal circuit components. J Neurosci. 2008 Jul 2;28(27):6872-83.
180. O'Tuathaigh CM, Babovic D, O'Sullivan GJ, Clifford JJ, Tighe O, Croke DT, et al. Phenotypic characterization of spatial cognition and social behavior in mice with 'knockout' of the schizophrenia risk gene neuregulin 1. Neuroscience. 2007 Jun 15;147(1):18-27.
181. Mozhui K, Wang X, Chen J, Mulligan MK, Li Z, Ingles J, et al. Genetic regulation of Nrxn1 [corrected] expression: an integrative cross-species analysis of schizophrenia candidate genes. Transl Psychiatry. 2011;1:e25.
182. van Schijndel JE, van Loo KM, van Zweeden M, Djurovic S, Andreassen OA, Hansen T, et al. Three-cohort targeted gene screening reveals a non-synonymous TRKA polymorphism associated with schizophrenia. J Psychiatr Res. 2009 Oct;43(15):1195-9.
183. Walker RM, Christoforou A, Thomson PA, McGhee KA, Maclean A, Muhleisen TW, et al. Association analysis of Neuregulin 1 candidate regions in schizophrenia and bipolar disorder. Neurosci Lett. 2010 Jun 30;478(1):9-13.
184. Hashimoto R, Straub RE, Weickert CS, Hyde TM, Kleinman JE, Weinberger DR. Expression analysis of neuregulin-1 in the dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. Mol Psychiatry. 2004 Mar;9(3):299-307.
185. Law AJ, Lipska BK, Weickert CS, Hyde TM, Straub RE, Hashimoto R, et al. Neuregulin 1 transcripts are differentially expressed in schizophrenia and regulated by 5' SNPs associated with the disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Apr 25;103(17):6747-52.
186. Hahn CG, Wang HY, Cho DS, Talbot K, Gur RE, Berrettini WH, et al. Altered neuregulin 1-erbB4 signaling contributes to NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. Nat Med. 2006 Jul;12(7):824-8.
187. Harris LW, Lockstone HE, Khaitovich P, Weickert CS, Webster MJ, Bahn S. Gene expression in the prefrontal cortex during adolescence: implications for the onset of schizophrenia. BMC Med Genomics. 2009;2:28.
188. Colantuoni C, Hyde TM, Mitkus S, Joseph A, Sartorius L, Aguirre C, et al. Age-related changes in the expression of schizophrenia susceptibility genes in the human prefrontal cortex. Brain Struct Funct. 2008 Sep;213(1-2):255-71.
189. Law AJ, Shannon Weickert C, Hyde TM, Kleinman JE, Harrison PJ. Neuregulin-1 (NRG-1) mRNA and protein in the adult human brain. Neuroscience. 2004;127(1):125-36.
190. Petryshen TL, Middleton FA, Kirby A, Aldinger KA, Purcell S, Tahl AR, et al. Support for involvement of neuregulin 1 in schizophrenia pathophysiology. Mol Psychiatry. 2005 Apr;10(4):366-74, 28.

191. Middleton FA, Pato CN, Gentile KL, McGann L, Brown AM, Trauzzi M, et al. Gene expression analysis of peripheral blood leukocytes from discordant sib-pairs with schizophrenia and bipolar disorder reveals points of convergence between genetic and functional genomic approaches. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2005 Jul 5;136B(1):12-25.
192. Ballmaier M, Zoli M, Leo G, Agnati LF, Spano P. Preferential alterations in the mesolimbic dopamine pathway of heterozygous reeler mice: an emerging animal-based model of schizophrenia. Eur J Neurosci. 2002 Apr;15(7):1197-205.
193. Fatemi SH, Reutiman TJ, Folsom TD. Chronic psychotropic drug treatment causes differential expression of Reelin signaling system in frontal cortex of rats. Schizophr Res. 2009 Jun;111(1-3):138-52.
194. Alkelai A, Lupoli S, Greenbaum L, Kohn Y, Kanyas-Sarner K, Ben-Asher E, et al. DOCK4 and CEACAM21 as novel schizophrenia candidate genes in the Jewish population. Int J Neuropsychopharmacol. 2012 May;15(4):459-69.
195. Kahler AK, Djurovic S, Kulle B, Jonsson EG, Agartz I, Hall H, et al. Association analysis of schizophrenia on 18 genes involved in neuronal migration: MDGA1 as a new susceptibility gene. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2008 Oct 5;147B(7):1089-100.
196. Ovadia G, Shifman S. The genetic variation of RELN expression in schizophrenia and bipolar disorder. PLoS One. 2011;6(5):e19955.
197. Shifman S, Johannesson M, Bronstein M, Chen SX, Collier DA, Craddock NJ, et al. Genome-wide association identifies a common variant in the reelin gene that increases the risk of schizophrenia only in women. PLoS Genet. 2008 Feb;4(2):e28.
198. Knable MB, Barci BM, Webster MJ, Meador-Woodruff J, Torrey EF. Molecular abnormalities of the hippocampus in severe psychiatric illness: postmortem findings from the Stanley Neuropathology Consortium. Mol Psychiatry. 2004 Jun;9(6):609-20, 544.
199. Grayson DR, Jia X, Chen Y, Sharma RP, Mitchell CP, Guidotti A, et al. Reelin promoter hypermethylation in schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Jun 28;102(26):9341-6.
200. Jeans AF, Oliver PL, Johnson R, Capogna M, Vikman J, Molnar Z, et al. A dominant mutation in Snap25 causes impaired vesicle trafficking, sensorimotor gating, and ataxia in the blind-drunk mouse. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Feb 13;104(7):2431-6.
201. MacDonald ML, Eaton ME, Dudman JT, Konradi C. Antipsychotic drugs elevate mRNA levels of presynaptic proteins in the frontal cortex of the rat. Biol Psychiatry. 2005 May 1;57(9):1041-51.
202. Fanous AH, Zhao Z, van den Oord EJ, Maher BS, Thiselton DL, Bergen SE, et al. Association study of SNAP25 and schizophrenia in Irish family and case-control samples. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2010 Mar 5;153B(2):663-74.
203. Gabriel SM, Haroutunian V, Powchik P, Honer WG, Davidson M, Davies P, et al. Increased concentrations of presynaptic proteins in the cingulate cortex of subjects with schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 1997 Jun;54(6):559-66.
204. Clark D, Dedova I, Cordwell S, Matsumoto I. A proteome analysis of the anterior cingulate cortex gray matter in schizophrenia. Mol Psychiatry. 2006 May;11(5):459-70, 23.

205. Glatt SJ, Everall IP, Kremen WS, Corbeil J, Sasik R, Khanlou N, et al. Comparative gene expression analysis of blood and brain provides concurrent validation of SELENBP1 up-regulation in schizophrenia. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Oct 25;102(43):15533-8.
206. Thompson PM, Egbufoama S, Vawter MP. SNAP-25 reduction in the hippocampus of patients with schizophrenia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2003 May;27(3):411-7.
207. Karson CN, Mrak RE, Schluterman KO, Sturner WQ, Sheng JG, Griffin WS. Alterations in synaptic proteins and their encoding mRNAs in prefrontal cortex in schizophrenia: a possible neurochemical basis for 'hypofrontality'. Mol Psychiatry. 1999 Jan;4(1):39-45.
208. Hemby SE, Ginsberg SD, Brunk B, Arnold SE, Trojanowski JQ, Eberwine JH. Gene expression profile for schizophrenia: discrete neuron transcription patterns in the entorhinal cortex. Arch Gen Psychiatry. 2002 Jul;59(7):631-40.
209. Shi J, Levinson DF, Duan J, Sanders AR, Zheng Y, Pe'er I, et al. Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. Nature. 2009 Aug 6;460(7256):753-7.
210. Potkin SG, Turner JA, Guffanti G, Lakatos A, Fallon JH, Nguyen DD, et al. A genome-wide association study of schizophrenia using brain activation as a quantitative phenotype. Schizophr Bull. 2009 Jan;35(1):96-108.
211. Martin MV, Rollins B, Sequeira PA, Mesen A, Byerley W, Stein R, et al. Exon expression in lymphoblastoid cell lines from subjects with schizophrenia before and after glucose deprivation. BMC Med Genomics. 2009;2:62.
212. Lu B. BDNF and activity-dependent synaptic modulation. Learn Mem. 2003 Mar-Apr;10(2):86-98.
213. Zeng Y, Tan M, Kohyama J, Sneddon M, Watson JB, Sun YE, et al. Epigenetic enhancement of BDNF signaling rescues synaptic plasticity in aging. J Neurosci. 2011 Dec 7;31(49):17800-10.
214. Altar CA, Cai N, Bliven T, Juhasz M, Conner JM, Acheson AL, et al. Anterograde transport of brain-derived neurotrophic factor and its role in the brain. Nature. 1997 Oct 23;389(6653):856-60.
215. Shoval G, Weizman A. The possible role of neurotrophins in the pathogenesis and therapy of schizophrenia. Eur Neuropsychopharmacol. 2005 May;15(3):319-29.
216. Maisonpierre PC, Le Beau MM, Espinosa R, 3rd, Ip NY, Belluscio L, de la Monte SM, et al. Human and rat brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: gene structures, distributions, and chromosomal localizations. Genomics. 1991 Jul;10(3):558-68.
217. Bath KG, Lee FS. Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function. Cogn Affect Behav Neurosci. 2006 Mar;6(1):79-85.
218. Egan MF, Kojima M, Callicott JH, Goldberg TE, Kolachana BS, Bertolino A, et al. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. Cell. 2003 Jan 24;112(2):257-69.
219. Hong CJ, Liou YJ, Tsai SJ. Effects of BDNF polymorphisms on brain function and behavior in health and disease. Brain Res Bull. 2011 Nov 25;86(5-6):287-97.
220. Rakofsky JJ, Ressler KJ, Dunlop BW. BDNF function as a potential mediator of bipolar disorder and post-traumatic stress disorder comorbidity. Mol Psychiatry. 2012 Jan;17(1):22-35.

221. Zhang L, Fang Y, Zeng Z, Lian Y, Wei J, Zhu H, et al. BDNF gene polymorphisms are associated with Alzheimer's disease-related depression and antidepressant response. J Alzheimers Dis. 2011;26(3):523-30.
222. Chang YC, Rapoport SI, Rao JS. Chronic administration of mood stabilizers upregulates BDNF and bcl-2 expression levels in rat frontal cortex. Neurochem Res. 2009 Mar;34(3):536-41.
223. Kawashima K, Ikeda M, Kishi T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, et al. BDNF is not associated with schizophrenia: data from a Japanese population study and meta-analysis. Schizophr Res. 2009 Jul;112(1-3):72-9.
224. Buckley PF, Pillai A, Howell KR. Brain-derived neurotrophic factor: findings in schizophrenia. Curr Opin Psychiatry. 2011 Mar;24(2):122-7.
225. Taylor SB, Taylor AR, Koenig JI. The interaction of disrupted type II neuregulin 1 and chronic adolescent stress on adult anxiety- and fear-related behaviors. Neuroscience. 2013 Sep 26;249:31-42.
226. Greenwood TA, Light GA, Swerdlow NR, Radant AD, Braff DL. Association analysis of 94 candidate genes and schizophrenia-related endophenotypes. PLoS One. 2012;7(1):e29630.
227. Stefansson H, Sigurdsson E, Steinthorsdottir V, Bjornsdottir S, Sigmundsson T, Ghosh S, et al. Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. Am J Hum Genet. 2002 Oct;71(4):877-92.
228. Stefansson H, Sarginson J, Kong A, Yates P, Steinthorsdottir V, Gudfinnsson E, et al. Association of neuregulin 1 with schizophrenia confirmed in a Scottish population. Am J Hum Genet. 2003 Jan;72(1):83-7.
229. Georgieva L, Dimitrova A, Ivanov D, Nikolov I, Williams NM, Grozeva D, et al. Support for neuregulin 1 as a susceptibility gene for bipolar disorder and schizophrenia. Biol Psychiatry. 2008 Sep 1;64(5):419-27.
230. Munafo MR, Attwood AS, Flint J. Neuregulin 1 genotype and schizophrenia. Schizophr Bull. 2008 Jan;34(1):9-12.
231. Falls DL. Neuregulins: functions, forms, and signaling strategies. Exp Cell Res. 2003 Mar 10;284(1):14-30.
232. Corfas G, Roy K, Buxbaum JD. Neuregulin 1-erbB signaling and the molecular/cellular basis of schizophrenia. Nat Neurosci. 2004 Jun;7(6):575-80.
233. Skaper SD, Di Marzo V. Endocannabinoids in nervous system health and disease: the big picture in a nutshell. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2012 Dec 5;367(1607):3193-200.
234. Pertwee RG. Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. Br J Pharmacol. 2006 Jan;147 Suppl 1:S163-71.
235. Onaivi ES, Ishiguro H, Gu S, Liu QR. CNS effects of CB2 cannabinoid receptors: beyond neuro-immuno-cannabinoid activity. J Psychopharmacol. 2012 Jan;26(1):92-103.
236. Onaivi ES. Cannabinoid receptors in brain: pharmacogenetics, neuropharmacology, neurotoxicology, and potential therapeutic applications. Int Rev Neurobiol. 2009;88:335-69.
237. Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carriere D, Carayon P, et al. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. Eur J Biochem. 1995 Aug 15;232(1):54-61.

238. Dinu IR, Popa S, Bicu M, Mota E, Mota M. The implication of CNR1 gene's polymorphisms in the modulation of endocannabinoid system effects. Rom J Intern Med. 2009;47(1):9-18.
239. Okahisa Y, Kodama M, Takaki M, Inada T, Uchimura N, Yamada M, et al. Association Study of Two Cannabinoid Receptor Genes, CNR1 and CNR2, with Methamphetamine Dependence. Curr Neuropharmacol. 2011 Mar;9(1):183-9.
240. Hirvonen J, Zanotti-Fregonara P, Umhau JC, George DT, Rallis-Frutos D, Lyoo CH, et al. Reduced cannabinoid CB1 receptor binding in alcohol dependence measured with positron emission tomography. Mol Psychiatry. 2013 Aug;18(8):916-21.
241. Schacht JP, Hutchison KE, Filbey FM. Associations between cannabinoid receptor-1 (CNR1) variation and hippocampus and amygdala volumes in heavy cannabis users. Neuropsychopharmacology. 2012 Oct;37(11):2368-76.
242. Zhang PW, Ishiguro H, Ohtsuki T, Hess J, Carillo F, Walther D, et al. Human cannabinoid receptor 1: 5' exons, candidate regulatory regions, polymorphisms, haplotypes and association with polysubstance abuse. Mol Psychiatry. 2004 Oct;9(10):916-31.
243. Tiwari AK, Zai CC, Likhodi O, Voineskos AN, Meltzer HY, Lieberman JA, et al. Association study of cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene in tardive dyskinesia. Pharmacogenomics J. 2012 Jun;12(3):260-6.
244. Ehlers CL, Slutske WS, Lind PA, Wilhelmsen KC. Association between single nucleotide polymorphisms in the cannabinoid receptor gene (CNR1) and impulsivity in southwest California Indians. Twin Res Hum Genet. 2007 Dec;10(6):805-11.
245. Brown JA, Horvath S, Garbett KA, Schmidt MJ, Everheart M, Gellert L, et al. The role of cannabinoid 1 receptor expressing interneurons in behavior. Neurobiol Dis. 2014 Mar;63:210-21.
246. Eggan SM, Lazarus MS, Stoyak SR, Volk DW, Glausier JR, Huang ZJ, et al. Cortical glutamic acid decarboxylase 67 deficiency results in lower cannabinoid 1 receptor messenger RNA expression: implications for schizophrenia. Biol Psychiatry. 2012 Jan 15;71(2):114-9.
247. Mitjans M, Serretti A, Fabbri C, Gasto C, Catalan R, Fananas L, et al. Screening genetic variability at the CNR1 gene in both major depression etiology and clinical response to citalopram treatment. Psychopharmacology (Berl). 2013 Jun;227(3):509-19.
248. Monteleone P, Bifulco M, Maina G, Tortorella A, Gazzerro P, Proto MC, et al. Investigation of CNR1 and FAAH endocannabinoid gene polymorphisms in bipolar disorder and major depression. Pharmacol Res. 2010 May;61(5):400-4.
249. 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 Res. 2012 Mar 30;196(1):160.
250. Costa M, Squassina A, Congiu D, Chillotti C, Niola P, Galderisi S, et al. Investigation of endocannabinoid system genes suggests association between peroxisome proliferator activator receptor-alpha gene (PPARA) and schizophrenia. Eur Neuropsychopharmacol. 2013 Jul;23(7):749-59.
251. Seifert J, Ossege S, Emrich HM, Schneider U, Stuhrmann M. No association of CNR1 gene variations with susceptibility to schizophrenia. Neurosci Lett. 2007 Oct 9;426(1):29-33.

252. Martinez-Gras I, Hoenicka J, Ponce G, Rodriguez-Jimenez R, Jimenez-Arriero MA, Perez-Hernandez E, et al. (AAT)n repeat in the cannabinoid receptor gene, CNR1: association with schizophrenia in a Spanish population. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2006 Oct;256(7):437-41.
253. Benzinou M, Chevre JC, Ward KJ, Lecoeur C, Dina C, Lobbens S, et al. Endocannabinoid receptor 1 gene variations increase risk for obesity and modulate body mass index in European populations. Hum Mol Genet. 2008 Jul 1;17(13):1916-21.
254. Feng Q, Jiang L, Berg RL, Antonik M, MacKinney E, Gunnell-Santoro J, et al. A common CNR1 (cannabinoid receptor 1) haplotype attenuates the decrease in HDL cholesterol that typically accompanies weight gain. PLoS One. 2010;5(12):e15779.
255. Muller-Vahl KR, Emrich HM. Cannabis and schizophrenia: towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia. Expert Rev Neurother. 2008 Jul;8(7):1037-48.
256. Vicente-Sanchez A, Sanchez-Blazquez P, Rodriguez-Munoz M, Garzon J. HINT1 protein cooperates with cannabinoid 1 receptor to negatively regulate glutamate NMDA receptor activity. Mol Brain. 2013;6:42.
257. Jaeger JP, Mattevi VS, Callegari-Jacques SM, Hutz MH. Cannabinoid type-1 receptor gene polymorphisms are associated with central obesity in a Southern Brazilian population. Dis Markers. 2008;25(1):67-74.
258. Lou ZY, Zhao CB, Xiao BG. Immunoregulation of experimental autoimmune encephalomyelitis by the selective CB1 receptor antagonist. J Neurosci Res. 2012 Jan;90(1):84-95.
259. Busse S, Busse M, Schiltz K, Bielau H, Gos T, Brisch R, et al. Different distribution patterns of lymphocytes and microglia in the hippocampus of patients with residual versus paranoid schizophrenia: further evidence for disease course-related immune alterations? Brain Behav Immun. 2012 Nov;26(8):1273-9.
260. Zavitsanou K, Dalton VS, Walker AK, Weickert CS, Sominsky L, Hodgson DM. Neonatal lipopolysaccharide treatment has long-term effects on monoaminergic and cannabinoid receptors in the rat. Synapse. 2013 Jun;67(6):290-9.
261. Arseneault L, Cannon M, Poulton R, Murray R, Caspi A, Moffitt TE. Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. BMJ. 2002 Nov 23;325(7374):1212-3.
262. Hoggart CJ, Clark TG, De Iorio M, Whittaker JC, Balding DJ. Genome-wide significance for dense SNP and resequencing data. Genet Epidemiol. 2008 Feb;32(2):179-85.
263. Stringer S, Wray NR, Kahn RS, Derks EM. Underestimated effect sizes in GWAS: fundamental limitations of single SNP analysis for dichotomous phenotypes. PLoS One. 2011;6(11):e27964.
264. Logsdon BA, Hoffman GE, Mezey JG. A variational Bayes algorithm for fast and accurate multiple locus genome-wide association analysis. BMC Bioinformatics. 2010;11:58.
265. Matheson SL, Shepherd AM, Laurens KR, Carr VJ. A systematic meta-review grading the evidence for non-genetic risk factors and putative antecedents of schizophrenia. Schizophr Res. 2011 Dec;133(1-3):133-42.
266. van Os J, Krabbendam L, Myin-Germeys I, Delespaul P. The schizophrenia envirome. Curr Opin Psychiatry. 2005 Mar;18(2):141-5.

267. Gilmore J, Murray R. Prenatal and perinatal factors. Lieberman JA, Stroup TS, Perkins DO, eds The American Psychiatric Publishing Textbook of Schizophrenia Washington, DC: American Psychiatric Publishing Inc. 2006 Mar:55-68.
268. Torrey EF, Bartko JJ, Yolken RH. Toxoplasma gondii and other risk factors for schizophrenia: an update. Schizophr Bull. 2012 May;38(3):642-7.
269. Pallast EG, Jongbloet PH, Straatman HM, Zielhuis GA. Excess seasonality of births among patients with schizophrenia and seasonal ovopathy. Schizophr Bull. 1994;20(2):269-76.
270. Susser E, Brown A, Gorman J. Prenatal Exposures in Schizophrenia. Washington, DC: American Psychiatric Press. 1999 Feb.
271. Dalton VS, Verdurand M, Walker A, Hodgson DM, Zavitsanou K. Synergistic Effect between Maternal Infection and Adolescent Cannabinoid Exposure on Serotonin 5HT1A Receptor Binding in the Hippocampus: Testing the "Two Hit" Hypothesis for the Development of Schizophrenia. ISRN Psychiatry. 2012;2012:451865.
272. Griesinger W. Die Pathologie und Therapie der psychischen. Stutgart: Krabbe. 1845 Jan-Feb.
273. Johnstone EC, Crow TJ, Frith CD, Husband J, Kreel L. Cerebral ventricular size and cognitive impairment in chronic schizophrenia. Lancet. 1976 Oct 30;2(7992):924-6.
274. Crespo-Facorro B, Barbadillo L, Pelayo-Teran JM, Rodriguez-Sanchez JM. Neuropsychological functioning and brain structure in schizophrenia. Int Rev Psychiatry. 2007 Aug;19(4):325-36.
275. Fusar-Poli P, Howes OD, Allen P, Broome M, Valli I, Asselin MC, et al. Abnormal prefrontal activation directly related to pre-synaptic striatal dopamine dysfunction in people at clinical high risk for psychosis. Mol Psychiatry. 2011 Jan;16(1):67-75.
276. Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW. A review of MRI findings in schizophrenia. Schizophr Res. 2001 Apr 15;49(1-2):1-52.
277. Vita A, De Peri L, Silenzi C, Dieci M. Brain morphology in first-episode schizophrenia: a meta-analysis of quantitative magnetic resonance imaging studies. Schizophr Res. 2006 Feb 15;82(1):75-88.
278. Crespo-Facorro B, Roiz-Santianez R, Pelayo-Teran JM, Perez-Iglesias R, Carrasco-Marin E, Mata I, et al. Low-activity allele of Catechol-O-Methyltransferase (COMTL) is associated with increased lateral ventricles in patients with first episode non-affective psychosis. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2007 Oct 1;31(7):1514-8.
279. Ellison-Wright I, Glahn DC, Laird AR, Thelen SM, Bullmore E. The anatomy of first-episode and chronic schizophrenia: an anatomical likelihood estimation meta-analysis. Am J Psychiatry. 2008 Aug;165(8):1015-23.
280. Steen RG, Mull C, McClure R, Hamer RM, Lieberman JA. Brain volume in first-episode schizophrenia: systematic review and meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. Br J Psychiatry. 2006 Jun;188:510-8.
281. Takahashi T, Suzuki M. [Progress in MRI studies of the schizophrenia spectrum]. Seishin Shinkeigaku Zasshi. 2013;115(8):874-9.

282. Olabi B, Ellison-Wright I, McIntosh AM, Wood SJ, Bullmore E, Lawrie SM. Are there progressive brain changes in schizophrenia? A meta-analysis of structural magnetic resonance imaging studies. Biol Psychiatry. 2011 Jul 1;70(1):88-96.
283. Illowsky BP, Juliano DM, Bigelow LB, Weinberger DR. Stability of CT scan findings in schizophrenia: results of an 8 year follow-up study. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1988 Feb;51(2):209-13.
284. Roiz-Santianez R, Ayesa-Arriola R, Tordesillas-Gutierrez D, Ortiz-Garcia de la Foz V, Perez-Iglesias R, Pazos A, et al. Three-year longitudinal population-based volumetric MRI study in first-episode schizophrenia spectrum patients. Psychol Med. 2013 Sep 26:1-14.
285. Schaufelberger MS, Lappin JM, Duran FL, Rosa PG, Uchida RR, Santos LC, et al. Lack of progression of brain abnormalities in first-episode psychosis: a longitudinal magnetic resonance imaging study. Psychol Med. 2011 Aug;41(8):1677-89.
286. Cahn W, Hulshoff Pol HE, Bongers M, Schnack HG, Mandl RC, Van Haren NE, et al. Brain morphology in antipsychotic-naive schizophrenia: a study of multiple brain structures. Br J Psychiatry Suppl. 2002 Sep;43:s66-72.
287. Ho BC, Andreasen NC, Nopoulos P, Arndt S, Magnotta V, Flaum M. Progressive structural brain abnormalities and their relationship to clinical outcome: a longitudinal magnetic resonance imaging study early in schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2003 Jun;60(6):585-94.
288. Pantelis C, Yucel M, Wood SJ, Velakoulis D, Sun D, Berger G, et al. Structural brain imaging evidence for multiple pathological processes at different stages of brain development in schizophrenia. Schizophr Bull. 2005 Jul;31(3):672-96.
289. Ho BC, Milev P, O'Leary DS, Librant A, Andreasen NC, Wassink TH. Cognitive and magnetic resonance imaging brain morphometric correlates of brain-derived neurotrophic factor Val66Met gene polymorphism in patients with schizophrenia and healthy volunteers. Arch Gen Psychiatry. 2006 Jul;63(7):731-40.
290. Montag C, Weber B, Fliessbach K, Elger C, Reuter M. The BDNF Val66Met polymorphism impacts parahippocampal and amygdala volume in healthy humans: incremental support for a genetic risk factor for depression. Psychol Med. 2009 Nov;39(11):1831-9.
291. Szeszko PR, Lipsky R, Mentschel C, Robinson D, Gunduz-Bruce H, Sevy S, et al. Brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and volume of the hippocampal formation. Mol Psychiatry. 2005 Jul;10(7):631-6.
292. Eisenberg DP, Ianni AM, Wei SM, Kohn PD, Kolachana B, Apud J, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) Val(66)Met polymorphism differentially predicts hippocampal function in medication-free patients with schizophrenia. Mol Psychiatry. 2013 Jun;18(6):713-20.
293. Molendijk ML, Bus BA, Spinhoven P, Kaimatzoglou A, Oude Voshaar RC, Penninx BW, et al. A systematic review and meta-analysis on the association between BDNF val(66)met and hippocampal volume--a genuine effect or a winners curse? Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2012 Sep;159B(6):731-40.

294. Dutt A, McDonald C, Dempster E, Prata D, Shaikh M, Williams I, et al. The effect of COMT, BDNF, 5-HTT, NRG1 and DTNBP1 genes on hippocampal and lateral ventricular volume in psychosis. Psychol Med. 2009 Nov;39(11):1783-97.
295. Gruber O, Hasan A, Scherk H, Wobrock T, Schneider-Axmann T, Ekawardhani S, et al. Association of the brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism with magnetic resonance spectroscopic markers in the human hippocampus: in vivo evidence for effects on the glutamate system. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2012 Feb;262(1):23-31.
296. Smith GN, Thornton AE, Lang DJ, Macewan GW, Ehmann TS, Kopala LC, et al. Hippocampal volume and the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism in first episode psychosis. Schizophr Res. 2012 Feb;134(2-3):253-9.
297. Koolschijn PC, van Haren NE, Bakker SC, Hoogendoorn ML, Hulshoff Pol HE, Kahn RS. Effects of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism on hippocampal volume change in schizophrenia. Hippocampus. 2010 Sep;20(9):1010-7.
298. Ho BC, Andreasen NC, Dawson JD, Wassink TH. Association between brain-derived neurotrophic factor Val66Met gene polymorphism and progressive brain volume changes in schizophrenia. Am J Psychiatry. 2007 Dec;164(12):1890-9.
299. Cannon DM, Walshe M, Dempster E, Collier DA, Marshall N, Bramon E, et al. The association of white matter volume in psychotic disorders with genotypic variation in NRG1, MOG and CNP: a voxel-based analysis in affected individuals and their unaffected relatives. Transl Psychiatry. 2012;2:e167.
300. Mata I, Perez-Iglesias R, Roiz-Santianez R, Tordesillas-Gutierrez D, Gonzalez-Mandly A, Vazquez-Barquero JL, et al. A neuregulin 1 variant is associated with increased lateral ventricle volume in patients with first-episode schizophrenia. Biol Psychiatry. 2009 Mar 15;65(6):535-40.
301. Onwuameze OE, Nam KW, Epping EA, Wassink TH, Ziebell S, Andreasen NC, et al. MAPK14 and CNR1 gene variant interactions: effects on brain volume deficits in schizophrenia patients with marijuana misuse. Psychol Med. 2013 Mar;43(3):619-31.
302. Ho BC, Wassink TH, Ziebell S, Andreasen NC. Cannabinoid receptor 1 gene polymorphisms and marijuana misuse interactions on white matter and cognitive deficits in schizophrenia. Schizophr Res. 2011 May;128(1-3):66-75.
303. Wong DF, Kuwabara H, Horti AG, Raymont V, Brasic J, Guevara M, et al. Quantification of cerebral cannabinoid receptors subtype 1 (CB1) in healthy subjects and schizophrenia by the novel PET radioligand [11C]OMAR. Neuroimage. 2010 Oct 1;52(4):1505-13.
304. Ceccarini J, De Hert M, Van Winkel R, Koethe D, Bormans G, Leweke FM, et al. In vivo PET imaging of cerebral type 1 cannabinoid receptor availability un patients with schizophrenia. Schizophr Res. 2010 Dec;117(2-3):170.
305. Dean B, Sundram S, Bradbury R, Scarr E, Copolov D. Studies on [3H]CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. Neuroscience. 2001;103(1):9-15.
306. Pelayo-Teran JM, Perez-Iglesias R, Ramirez-Bonilla M, Gonzalez-Blanch C, Martinez-Garcia O, Pardo-Garcia G, et al. Epidemiological factors associated with treated incidence of first-episode non-affective psychosis in Cantabria: insights from the Clinical Programme on Early Phases of Psychosis. Early Interv Psychiatry. 2008 Aug;2(3):178-87.

307. Spitzer R, Gibbon M, First M. Structured clinical interview for DSM-III-R. . Washington, DC: American Psychiatric Press. 1994 Jul.
308. Andreasen N. The Scale for the Assesment of Positive Symptoms (SAPS). Iowa City: University of Iowa. 1984 Dec.
309. Andreasen NC, Flaum M, Arndt S. The Comprehensive Assessment of Symptoms and History (CASH). An instrument for assessing diagnosis and psychopathology. Arch Gen Psychiatry. 1992 Aug;49(8):615-23.
310. Overall JE, Gorham DR. The Brief Psychiatric Report Scale. Psychological Reports. 1962 Apr 20;10:799-812.
311. Andreasen N, 1983. The Scale for the Assesment of Negative Symptoms (SANS). Iowa City: University of Iowa. 1983 Jan.
312. Guy W. ECDEU assessment manual for psychopharmacology, revised ed. . DHEW Publ No ADM 76-338 Washington DC: US Department of Health, Education and Welfare. 1976 Feb;99(2):193-5.
313. Janca A, Kastrup M, Katschnig H, Lopez-Ibor JJ, Jr., Mezzich JE, Sartorius N. The World Health Organization Short Disability Assessment Schedule (WHO DAS-S): a tool for the assessment of difficulties in selected areas of functioning of patients with mental disorders. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol. 1996 Nov;31(6):349-54.
314. Andreasen NC, Cohen G, Harris G, Cizadlo T, Parkkinen J, Rezai K, et al. Image processing for the study of brain structure and function: problems and programs. J Neuropsychiatry Clin Neurosci. 1992 Spring;4(2):125-33.
315. Magnotta VA, Harris G, Andreasen NC, O'Leary DS, Yuh WT, Heckel D. Structural MR image processing using the BRAINS2 toolbox. Comput Med Imaging Graph. 2002 Jul-Aug;26(4):251-64.
316. Tobler AR, Short S, Andersen MR, Paner TM, Briggs JC, Lambert SM, et al. The SNPlex genotyping system: a flexible and scalable platform for SNP genotyping. J Biomol Tech. 2005 Dec;16(4):398-406.
317. Akaike H. A new look at the statistical model identification. IEEE Trans Autom Countr. 1974 Dec 30;CA19:716-23.
318. Aartsen MG, Abbasi R, Abdou Y, Ackermann M, Adams J, Aguilar JA, et al. First observation of PeV-energy neutrinos with IceCube. Phys Rev Lett. 2013 Jul 12;111(2):021103.
319. Rizos EN, Siafakas N, Stefanis N, Douzenis A, Kontaxakis V, Laskos E, et al. Association of serum BDNF and val66met polymorphism of the brain-derived neurotrophic factor in a sample of first psychotic episode patients. Psychiatriki. 2009 Oct;20(4):297-304.
320. Sun MM, Liu LF, Yang LM, Wang Y, Cui KY, Wang LN, et al. [Association study of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and clinical characteristics of first episode schizophrenia]. Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi. 2012 Apr;29(2):155-8.
321. Zakharyan R, Boyajyan A, Arakelyan A, Gevorgyan A, Mrazek F, Petrek M. Functional variants of the genes involved in neurodevelopment and susceptibility to schizophrenia in an Armenian population. Hum Immunol. 2011 Sep;72(9):746-8.

322. Takahashi T, Suzuki M, Tsunoda M, Kawamura Y, Takahashi N, Tsuneki H, et al. Association between the brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism and brain morphology in a Japanese sample of schizophrenia and healthy comparisons. Neurosci Lett. 2008 Apr 11;435(1):34-9.
323. Bueller JA, Aftab M, Sen S, Gomez-Hassan D, Burmeister M, Zubieta JK. BDNF Val66Met allele is associated with reduced hippocampal volume in healthy subjects. Biol Psychiatry. 2006 May 1;59(9):812-5.
324. Sublette ME, Baca-Garcia E, Parsey RV, Oquendo MA, Rodrigues SM, Galfalvy H, et al. Effect of BDNF val66met polymorphism on age-related amygdala volume changes in healthy subjects. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2008 Oct 1;32(7):1652-5.
325. Koolschijn PC, Schel MA, de Rooij M, Rombouts SA, Crone EA. A three-year longitudinal functional magnetic resonance imaging study of performance monitoring and test-retest reliability from childhood to early adulthood. J Neurosci. 2011 Mar 16;31(11):4204-12.
326. Falls DL. Neuregulins and the neuromuscular system: 10 years of answers and questions. J Neurocytol. 2003 Jun-Sep;32(5-8):619-47.
327. Kim JY, Sun Q, Oglesbee M, Yoon SO. The role of ErbB2 signaling in the onset of terminal differentiation of oligodendrocytes in vivo. J Neurosci. 2003 Jul 2;23(13):5561-71.
328. Lopez-Bendito G, Cautinat A, Sanchez JA, Bielle F, Flames N, Garratt AN, et al. Tangential neuronal migration controls axon guidance: a role for neuregulin-1 in thalamocortical axon navigation. Cell. 2006 Apr 7;125(1):127-42.
329. Sussman CR, Vartanian T, Miller RH. The ErbB4 neuregulin receptor mediates suppression of oligodendrocyte maturation. J Neurosci. 2005 Jun 15;25(24):5757-62.
330. Cahill ME, Remmers C, Jones KA, Xie Z, Sweet RA, Penzes P. Neuregulin1 signaling promotes dendritic spine growth through kalirin. J Neurochem. 2013 Sep;126(5):625-35.
331. Hof PR, Haroutunian V, Friedrich VL, Jr., Byne W, Buitron C, Perl DP, et al. Loss and altered spatial distribution of oligodendrocytes in the superior frontal gyrus in schizophrenia. Biol Psychiatry. 2003 Jun 15;53(12):1075-85.
332. Uranova NA, Vostrikov VM, Orlovskaya DD, Rachmanova VI. Oligodendroglial density in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders: a study from the Stanley Neuropathology Consortium. Schizophr Res. 2004 Apr 1;67(2-3):269-75.
333. Schmitt A, Steyskal C, Bernstein HG, Schneider-Axmann T, Parlapani E, Schaeffer EL, et al. Stereologic investigation of the posterior part of the hippocampus in schizophrenia. Acta Neuropathol. 2009 Apr;117(4):395-407.
334. Roy K, Murtie JC, El-Khodor BF, Edgar N, Sardi SP, Hooks BM, et al. Loss of erbB signaling in oligodendrocytes alters myelin and dopaminergic function, a potential mechanism for neuropsychiatric disorders. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 May 8;104(19):8131-6.
335. Gruber O, Falkai P, Schneider-Axmann T, Schwab SG, Wagner M, Maier W. Neuregulin-1 haplotype HAP(ICE) is associated with lower hippocampal volumes in schizophrenic patients and in non-affected family members. J Psychiatr Res. 2008 Nov;43(1):1-6.
336. McIntosh AM, Moorhead TW, Job D, Lymer GK, Munoz Maniega S, McKirdy J, et al. The effects of a neuregulin 1 variant on white matter density and integrity. Mol Psychiatry. 2008 Nov;13(11):1054-9.

337. Tosato S, Bellani M, Bonetto C, Ruggeri M, Perlini C, Lasalvia A, et al. Is neuregulin 1 involved in determining cerebral volumes in schizophrenia? Preliminary results showing a decrease in superior temporal gyrus volume. Neuropsychobiology. 2012;65(3):119-25.
338. Ziats MN, Rennert OM. Expression profiling of autism candidate genes during human brain development implicates central immune signaling pathways. PLoS One. 2011;6(9):e24691.
339. Beveridge NJ, Tooney PA, Carroll AP, Gardiner E, Bowden N, Scott RJ, et al. Dysregulation of miRNA 181b in the temporal cortex in schizophrenia. Hum Mol Genet. 2008 Apr 15;17(8):1156-68.
340. Rossi S, Bozzali M, Bari M, Mori F, Studer V, Motta C, et al. Association between a genetic variant of type-1 cannabinoid receptor and inflammatory neurodegeneration in multiple sclerosis. PLoS One. 2013;8(12):e82848.
341. Woods BT. Is schizophrenia a progressive neurodevelopmental disorder? Toward a unitary pathogenetic mechanism. Am J Psychiatry. 1998 Dec;155(12):1661-70.
342. Perkins DO, Gu H, Boteva K, Lieberman JA. Relationship between duration of untreated psychosis and outcome in first-episode schizophrenia: a critical review and meta-analysis. Am J Psychiatry. 2005 Oct;162(10):1785-804.
343. van Os J, Henquet C, Stefanis N. Cannabis-related psychosis and the gene-environment interaction: comments on Ferdinand et Al. 2005. Addiction. 2005 Jun;100(6):874-5.
344. Lawrie SM, Hall J, McIntosh AM, Cunningham-Owens DG, Johnstone EC. Neuroimaging and molecular genetics of schizophrenia: pathophysiological advances and therapeutic potential. Br J Pharmacol. 2008 Mar;153 Suppl 1:S120-4.
345. Rais M, Cahn W, Van Haren N, Schnack H, Caspers E, Hulshoff Pol H, et al. Excessive brain volume loss over time in cannabis-using first-episode schizophrenia patients. Am J Psychiatry. 2008 Apr;165(4):490-6.
346. Quickfall J, Crockford D. Brain neuroimaging in cannabis use: a review. J Neuropsychiatry Clin Neurosci. 2006 Summer;18(3):318-32.
347. DeLisi LE, Sakuma M, Maurizio AM, Relja M, Hoff AL. Cerebral ventricular change over the first 10 years after the onset of schizophrenia. Psychiatry Res. 2004 Jan 15;130(1):57-70.
348. van Haren NE, Hulshoff Pol HE, Schnack HG, Cahn W, Brans R, Carati I, et al. Progressive brain volume loss in schizophrenia over the course of the illness: evidence of maturational abnormalities in early adulthood. Biol Psychiatry. 2008 Jan 1;63(1):106-13.
349. Grzywacz A, Samochowiec A, Ciechanowicz A, Samochowiec J. Family-based study of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene polymorphism in alcohol dependence. Pharmacol Rep. 2010 Sep-Oct;62(5):938-41.
350. Matsushita S, Kimura M, Miyakawa T, Yoshino A, Murayama M, Masaki T, et al. Association study of brain-derived neurotrophic factor gene polymorphism and alcoholism. Alcohol Clin Exp Res. 2004 Nov;28(11):1609-12.
351. Biskupska J, Borowiak KS, Karlin-Grazewicz K, Janus T, Waloszczyk P, Potocka-Banas B, et al. Estimation of BDNF gene polymorphism and predisposition to dependence development for selected psychoactive compounds: genetic aspects of addiction with the selected drugs, amphetamine, tetrahydrocannabinol and opiates. Hum Exp Toxicol. 2013 Mar;32(3):236-40.

352. Hyman C, Hofer M, Barde YA, Juhasz M, Yancopoulos GD, Squinto SP, et al. BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra. Nature. 1991 Mar 21;350(6315):230-2.
353. Karl T, Arnold JC. What does a mouse tell us about neuregulin 1-cannabis interactions? Front Cell Neurosci. 2013;7:18.
354. Karl T. Neuregulin 1: a prime candidate for research into gene-environment interactions in schizophrenia? Insights from genetic rodent models. Front Behav Neurosci. 2013;7:106.
355. Boucher AA, Hunt GE, Micheau J, Huang X, McGregor IS, Karl T, et al. The schizophrenia susceptibility gene neuregulin 1 modulates tolerance to the effects of cannabinoids. Int J Neuropsychopharmacol. 2011 Jun;14(5):631-43.
356. Haughey HM, Marshall E, Schacht JP, Louis A, Hutchison KE. Marijuana withdrawal and craving: influence of the cannabinoid receptor 1 (CNR1) and fatty acid amide hydrolase (FAAH) genes. Addiction. 2008 Oct;103(10):1678-86.
357. 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. J Clin Psychopharmacol. 2013 Apr;33(2):186-92.
358. Lenarcik-Kabza A, Laczmanski L, Milewicz A, Bidzinska-Speichert B, Pawlak M, Kolackov K, et al. The influence of endocannabinoid receptor 1 gene variations on anthropometric and metabolic parameters of women with polycystic ovary syndrome. Endokrynol Pol. 2014;65(3):181-8.
359. Milewicz A, Tworowska-Bardzinska U, Jedrzejuk D, Lwow F, Dunajska K, Laczmanski L, et al. Are endocannabinoid type 1 receptor gene (CNR1) polymorphisms associated with obesity and metabolic syndrome in postmenopausal Polish women? Int J Obes (Lond). 2011 Mar;35(3):373-7.
360. de Luis DA, Ovalle HF, Soto GD, Izaola O, de la Fuente B, Romero E. Role of genetic variation in the cannabinoid receptor gene (CNR1) (G1359A polymorphism) on weight loss and cardiovascular risk factors after liraglutide treatment in obese patients with diabetes mellitus type 2. J Investig Med. 2014 Feb;62(2):324-7.
361. Frost M, Nielsen TL, Wraae K, Hagen C, Piters E, Beckers S, et al. Polymorphisms in the endocannabinoid receptor 1 in relation to fat mass distribution. Eur J Endocrinol. 2010 Sep;163(3):407-12.
362. Kuliczkowska Plaksej J, Laczmanski L, Milewicz A, Lenarcik-Kabza A, Trzmiel-Bira A, Zaleska-Dorobisz U, et al. Cannabinoid receptor 1 gene polymorphisms and nonalcoholic Fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome and in healthy controls. Int J Endocrinol. 2014;2014:232975.
363. Jovicich J, Czanner S, Greve D, Haley E, van der Kouwe A, Gollub R, et al. Reliability in multi-site structural MRI studies: effects of gradient non-linearity correction on phantom and human data. Neuroimage. 2006 Apr 1;30(2):436-43.
364. Walters RJ, Fox NC, Crum WR, Taube D, Thomas DJ. Haemodialysis and cerebral oedema. Nephron. 2001 Feb;87(2):143-7.

365. Han X, Jovicich J, Salat D, van der Kouwe A, Quinn B, Czanner S, et al. Reliability of MRI-derived measurements of human cerebral cortical thickness: the effects of field strength, scanner upgrade and manufacturer. Neuroimage. 2006 Aug 1;32(1):180-94.
366. Senjem ML, Gunter JL, Shiung MM, Petersen RC, Jack CR, Jr. Comparison of different methodological implementations of voxel-based morphometry in neurodegenerative disease. Neuroimage. 2005 Jun;26(2):600-8.
367. Li J, Das K, Fu G, Li R, Wu R. The Bayesian lasso for genome-wide association studies. Bioinformatics. 2011 Feb 15;27(4):516-23.
368. Vonesh EF, Chinchilli VM. Linear and nonlinear models for the analysis of repeated measurements. New York: Marcel Dekker. 1997 Nov.
369. Allen SJ, Dawbarn D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. Clin Sci (Lond). 2006 Feb;110(2):175-91.
370. Cousijn J, Wiers RW, Ridderinkhof KR, van den Brink W, Veltman DJ, Goudriaan AE. Grey matter alterations associated with cannabis use: results of a VBM study in heavy cannabis users and healthy controls. Neuroimage. 2012 Feb 15;59(4):3845-51.

10. ANEXOS

Otras publicaciones relacionadas con el doctorado:

Pelayo-Terán JM, Suárez-Pinilla P, Chadi N and Crespo-Facorro B. Gene-environment interactions underlying the effect of cannabis in first episode psychosis. Current Pharmaceutical Design. 2012;18(32):5024-35.

Roiz-Santiañez R, Suárez-Pinilla P and Crespo-Facorro B. Brain Structural Effects of Antipsychotic Treatment in Schizophrenia: A Systematic Review. Current Neuropharmacology. 2015, 13 (in press).