

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



## **Casa abierta al tiempo**

Estudio de asociación entre los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* y la esquizofrenia en  
pacientes mexicanos

### TESIS

Que para obtener el grado de  
Maestro en Biología Experimental

### PRESENTA

Carlo Esteban Sotelo Ramírez

Comité de tutores:

Director o Codirectores

Dr. Francisco Fierro Fierro

Dra. Beatriz Elena Camarena Medellin

Asesor

Dr. Raúl Iván Escamilla Orozco

Fecha: Noviembre del 2020

## Declaración de originalidad

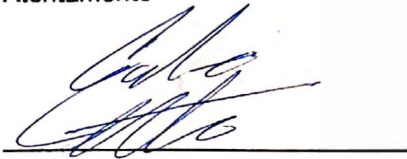
El que suscribe Carlo Esteban Sotelo Ramírez, alumno del posgrado en Biología Experimental, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autor de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada: "Estudio de asociación entre los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* y la esquizofrenia en pacientes mexicanos".

Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante H. jurado para lo obtención del grado de Maestro en Biología Experimental es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 18 de noviembre del 2020.

Atentamente



Carlo Esteban Sotelo Ramírez

**“El programa de Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, registro 001481, en el Nivel Consolidado, y cuenta con apoyo del mismo Consejo, clave DAFCYT-2003IMPTNNN0020”.**

Número de registro de la beca otorgada por CONACYT: 926391



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
Unidad Iztapalapa

Fecha : 18/11/2020

Página : 1/1

### CONSTANCIA DE PRESENTACION DE EXAMEN DE GRADO

La Universidad Autónoma Metropolitana extiende la presente CONSTANCIA DE PRESENTACION DE EXAMEN DE GRADO de MAESTRO EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL del alumno CARLO ESTEBAN SOTELO RAMIREZ, matrícula 2183802013, quien cumplió con los 176 créditos correspondientes a las unidades de enseñanza aprendizaje del plan de estudio. Con fecha veinticinco de noviembre del 2020 presentó la DEFENSA de su EXAMEN DE GRADO cuya denominación es:

Estudio de asociación entre los genes TLR1, TLR2 y TLR6 y la esquizofrenia en pacientes mexicanos.

Cabe mencionar que la aprobación tiene un valor de 40 créditos y el programa consta de 216 créditos.

El jurado del examen ha tenido a bien otorgarle la calificación de:

**APROBAR**

#### JURADO

Presidenta

DRA. BEATRIZ GOMEZ GONZALEZ

Secretaria

DRA. MARCELA VALDES TOVAR

Vocal

DRA. HERLINDA BONILLA JAIME

Vocal

DR. RAUL IVAN ESCAMILLA OROZCO

## **MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORAL**

**Codirector Interno: Dr. Francisco Fierro Fierro. Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa.**

**Codirectora Externa: Dra. Beatriz Elena Camarena Medellín. Departamento de Farmacogenética, Subdirección de Investigaciones Clínicas. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM).**

**Asesor. Dr. Raúl Iván Escamilla Orozco. Subdirector de Consulta Externa. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM)**

---

## AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

---

*Este trabajo no hubiera podido llevarse a cabo sin el apoyo de todas las personas que estuvieron acompañándome en este difícil y largo camino.*

*En primera instancia, quiero agradecer a mis maestros que estuvieron siempre guiándome. Agradezco a la Dra. Beatriz Camarena Medellín, quien siempre estuvo presente en mi trayectoria profesional a pesar de cualquier adversidad. Al Dr. Francisco Fierro Fierro, que a pesar del corto tiempo que tuvimos para discutir este proyecto, mostro interés y me aportó mucho conocimiento necesario para desarrollar una continuación de este estudio. Al Dr. Raúl Escamilla y a Bruno Ordoñez por su ayuda en el reclutamiento de pacientes y aportación de ideas que me permitieron enriquecer y culminar este trabajo. A la Dra. Beatriz Gómez González quien transmitió todo su conocimiento posible y siempre estuvo al pendiente de mi trayectoria y crecimiento profesional. Al Dr. Emilio Domínguez Salazar que fue de las primeras personas que me hizo sentir que mi proyecto no era menos importante en comparación con otros y me aportó ideas esenciales para la elaboración de este trabajo.*

*Dedico este trabajo a mi padre y mi madre quienes me dieron todas las facilidades para llegar a donde estoy en estos momentos y me inspiraron para cumplir todas mis metas. Los amo con todo mi corazón y espero estén orgullosos como yo lo estoy de ustedes. Dedico este trabajo a mis hermanos, a quienes amo y son el motor que me inspira a seguir superándome para que estén orgullosos de mí. A mis amigos incondicionales artistas Alfredo y Víctor, que siempre estuvieron a mi lado, haciendo más tranquilo y llevadero el camino para culminar este trabajo. A mis compañeros del departamento de farmacogenética, los cuales son un ejemplo y me inspiran a seguirme superando.*

*Por último, agradezco y dedico este trabajo a mi Ayerim, quien fue esa persona que siempre me alentó a alcanzar lo que para mí era inalcanzable, a superar obstáculos que para mí eran imposibles, de levantar mi ánimo en mis derrotas y de festejar conmigo las victorias. Tu eres la única que soporta mi carácter y sabe cómo tranquilizarme y sin ti no se dónde estaría en este momento... gracias por todo, Te Amo.*

## Resumen

**Introducción:** En la fisiopatología de la esquizofrenia, se han sugerido factores genéticos asociados a la etiología de esta enfermedad y a la respuesta farmacológica, entre los que destacan genes de la vía de la respuesta inmune innata como *TLR1*, *TLR2* y *TLR6*. Estos genes han mostrado alteraciones en su expresión en pacientes con esquizofrenia. El objetivo del estudio es determinar si existe una asociación entre los polimorfismos de los genes antes mencionados en pacientes con esquizofrenia comparado con sujetos control. **Metodología.** *Muestra:* Se incluyeron 300 pacientes con diagnóstico principal de esquizofrenia y 300 participantes sanos. *Análisis genético:* Genotipificación mediante PCR en tiempo real con sondas TaqMan de los polimorfismos de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6*. *Análisis estadístico:* Prueba de  $X^2$ , programa Haploview 4.2 y THESIAS, y el programa Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) versión 3.0.2. **Resultados:** Se observó asociación genética entre las variantes rs4833093/*TLR1*, rs5743709/*TLR2* y rs3775073/*TLR6* en pacientes comparado con sujetos control. Además, el haplotipo AT del gen *TLR2* mostró una mayor frecuencia en pacientes comparado con controles. Se encontró un efecto epistático entre los genes *TLR1* y *TLR2*, lo que aumenta 2.72 veces el riesgo a desarrollar esquizofrenia. Por último, se observó una asociación entre el gen *TLR2* y la respuesta farmacológica al tratamiento con antipsicóticos. **Conclusión:** Se observó asociación genética entre los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* con el desarrollo de esquizofrenia y una asociación del gen *TLR2* con la respuesta farmacológica a los antipsicóticos.

## Abstract

**Introduction:** In the pathophysiology of schizophrenia, genetic factors could be associated with the etiology of the disease and pharmacological response in patients. Alterations in different molecules related to innate immune response have been reported in patients with schizophrenia. These disturbances could be related with single nucleotide polymorphisms (SNP) in genes encoding proteins of innate immune pathways. The aim of this study was to analyze whether *TLR1*, *TLR2* and *TLR6* genes are associated with the etiology and the pharmacological response in schizophrenia. **Methods.** *Sample:* The study included 300 patients with a main diagnosis of schizophrenia and 300 healthy participants. *Genetic analysis:* Genotyping was performed by real-time PCR with TaqMan probes for polymorphisms of *TLR1*, *TLR2* and *TLR6* genes. *Statistical analysis:* We used  $X^2$  test, Haploview 4.2 program and THESIAS, and the Multifactorial Dimensionality Reduction (MDR) program version 3.0.2. **Results:** We found associations between rs4833093/*TLR1*, rs5743709/*TLR2* and rs3775073/*TLR6* polymorphisms in patients compared with control subjects. Furthermore, the AT haplotype of the *TLR2* gene showed a higher frequency in patients compared to controls. An epistatic effect was found between *TLR1* and *TLR2* genes, increasing the risk of developing schizophrenia by 2.72 times. Finally, we observed an association between the *TLR2* gene and the pharmacological response to antipsychotic treatment. **Conclusion:** There is a genetic association between *TLR1*, *TLR2* and *TLR6* genes with the development of schizophrenia and an association of *TLR2* gene with the pharmacological response to antipsychotics.



---

## ÍNDICE

---

Introducción.....	1
Tratamientos antipsicóticos.....	4
Epidemiología de la esquizofrenia .....	5
Factores involucrados en el desarrollo de esquizofrenia .....	6
Epidemiología genética en la esquizofrenia .....	8
Estudios en familias .....	8
Estudios en gemelos.....	8
Estudios de adopción.....	9
Farmacogenética .....	10
Estudios de asociación del genoma completo (GWAS).....	10
Inflamación en esquizofrenia.....	11
Efectos de los tratamientos antipsicóticos sobre la respuesta inmune .....	13
La respuesta inmune innata.....	14
Estructura de los TLRs.....	15
Vía de señalización de los TLRs para la iniciación de la inmunidad innata .....	17
Los TLRs y la esquizofrenia .....	20
Los genes <i>TLR</i> en la esquizofrenia.....	21
Descripción de la muestra.....	25
Muestra de casos.....	25
Criterios de inclusión de pacientes.....	26
Criterio de exclusión de pacientes .....	26
Muestra de controles.....	26
Criterios de inclusión de controles .....	26
Criterios de exclusión de controles .....	27
Respuesta al tratamiento con antipsicóticos .....	27
Análisis genético .....	27
Extracción de ADNg.....	27
Genotipificación por PCR en Tiempo Real.....	28

Análisis de frecuencias de genotipos y alelos.....	28
Análisis de haplotipos .....	29
Análisis gen-gen (GXG) .....	29
Análisis estadístico.....	29
Análisis genético .....	31
Análisis de frecuencias de genotipos y alelos de los genes <i>TLR1</i> , <i>TLR2</i> y <i>TLR6</i> y su asociación con el desarrollo de esquizofrenia .....	31
Análisis por haplotipos de los genes <i>TLR1</i> , <i>TLR2</i> y <i>TLR6</i> y su asociación con el desarrollo de esquizofrenia .....	34
Análisis de haplotipos del gen <i>TLR2</i> y su asociación con el desarrollo de esquizofrenia.....	35
Análisis de haplotipos del gen <i>TLR6</i> y su asociación con el desarrollo de esquizofrenia.....	37
Análisis de interacción GxG y la asociación con el desarrollo de esquizofrenia .....	38
Análisis genético de pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento .....	39
Análisis de haplotipos de los genes <i>TLR1</i> , <i>TLR2</i> y <i>TLR6</i> y su asociación con la respuesta farmacológica al tratamiento con antipsicóticos. ....	42
Análisis de interacción GxG y su asociación con la respuesta farmacológica en pacientes con esquizofrenia.....	45
Discusión.....	46
Conclusión.....	50
Referencias.....	52

---

## INTRODUCCIÓN

---

La salud mental es un componente fundamental para el bienestar del ser humano y está estrechamente relacionada con la salud física y social. Los trastornos mentales se caracterizan por alteraciones del pensamiento, la percepción, las emociones, la conducta y las relaciones con otras personas. A nivel mundial, existen aproximadamente 450 millones de personas que padecen un trastorno mental, de los cuales, sólo una pequeña parte recibe atención médica y un tratamiento adecuado. Desde hace algunos años, se han desarrollado grandes avances en el área de la investigación biomédica para la detección oportuna y un mejor tratamiento de los trastornos mentales (Organización Mundial de la Salud, 2019).

La mayoría de los trastornos mentales como la esquizofrenia, los trastornos del estado del ánimo, los trastornos de la conducta alimentaria, el trastorno obsesivo compulsivo, el trastorno por déficit de atención, entre otros, involucran diversos factores de riesgo como los sociales, psicológicos y biológicos, de los cuales podemos mencionar a los genéticos (Blonigen et al., 2005).

La epidemiología genética es una disciplina fundamental para identificar los factores genéticos que incrementan el riesgo a desarrollar algún trastorno mental y que el paciente responda o no a un determinado tratamiento farmacológico. Así, los estudios realizados en gemelos, familias y adopción han reportado la existencia de factores genéticos asociados a trastornos mentales como la esquizofrenia y a la respuesta farmacológica (Fatemi y Clayton, 2008). Mediante los estudios de asociación genética ha sido posible identificar diversos genes asociados a múltiples

vías biológicas las cuales están alteradas en pacientes diagnosticados con esquizofrenia. Diversos estudios revelan la existencia de anomalías en sistemas neurobiológicos en pacientes con esquizofrenia, entre los que destacan principalmente alteraciones en las vías dopaminérgica y glutamatérgica, al igual que deficiencias en la vía GABAérgica (Park *et al.* 2015). Del mismo modo, la inflamación crónica del sistema nervioso central (SNC) se ha asociado con la esquizofrenia (Müller, 2018), esto debido a que diversos síntomas de la esquizofrenia aparecen en varias enfermedades inflamatorias, como la encefalitis (Felgenhauer, 1990); enfermedades virales del SNC como el virus del herpes simple tipo 1 (HSV-1) (Chiveri *et al.*, 2003), HSV-2 (Oommen *et al.*, 1982) y el sarampión (Hiroshi *et al.*, 2003); enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico (van Dam, 1991) y la esclerodermia (Müller *et al.*, 1992; Müller *et al.*, 1993).

Con base en lo anterior, los resultados obtenidos de los estudios genéticos nos permiten identificar variantes de diversos genes asociadas con el desarrollo de la esquizofrenia y la respuesta farmacológica. Este conocimiento científico eventualmente será útil para tener un diagnóstico en etapas tempranas del trastorno al igual que nuevas y mejores terapias farmacológicas (Burmeister *et al.*, 2008).

El presente estudio tiene como objetivo analizar genes relacionados con la vía de señalización de la respuesta inmune innata y su asociación con el desarrollo de la esquizofrenia y con la respuesta farmacológica de los pacientes ante el tratamiento antipsicótico. Del mismo modo, el analizar la interacción entre diversos genes es

muy importante para elucidar la fisiopatología de un trastorno tan complejo como lo es la esquizofrenia.

---

## ANTECEDENTES

---

La esquizofrenia es considerada un desorden psiquiátrico debilitante, complejo y crónico, el cual se caracteriza por la presencia de síntomas positivos, negativos y cognitivos (Park *et al.* 2015). Los síntomas positivos destacan por la presencia de comportamientos y pensamientos atípicos como la psicosis. Los síntomas positivos consisten en delirios, alucinaciones y un comportamiento desorganizado el cual conlleva al paciente a perder la noción de lo que es real y lo que no (Kahn *et al.* 2015). Los síntomas negativos se asocian con una disminución del estado de ánimo y de la actividad social, caracterizado por un aplanamiento afectivo, anhedonia (incapacidad de realizar actividades que producían placer) y una disminución de la energía (Kahn *et al.* 2015). Los síntomas cognitivos se presentan generalmente antes de la aparición de los síntomas positivos y varían en el grado de severidad; éstos se caracterizan por un déficit en el funcionamiento ejecutivo, el cual se define como la capacidad de una persona para comprender información y posteriormente tomar una decisión. Del mismo modo, el paciente puede presentar problemas con la memoria operativa, en donde el individuo tiene dificultades para utilizar información inmediatamente después de haberla aprendido (Alvaro, 2006; Kahn *et al.* 2015). Todos estos síntomas pueden alterar las funciones sociales y mentales del individuo (Kozłowska *et al.* 2018), e interferir con la vida cotidiana de la persona al provocar problemas consigo mismo y con las personas que lo rodean (Schultz *et al.* 2007).

## Tratamientos antipsicóticos

El principal tratamiento farmacológico en la esquizofrenia para controlar los síntomas descritos anteriormente se basa en el uso de antipsicóticos, de los cuales existen dos clasificaciones: los antipsicóticos típicos o de primera generación, en los cuales podemos encontrar a la clorpromazina, flufenazina y proclorperazina; y los antipsicóticos atípicos o de segunda generación, en los cuales podemos encontrar a la clozapina, olanzapina, y risperidona (Escamilla, 2019; Müller y Schwarz, 2007). Los antipsicóticos típicos son bloqueadores potentes de los receptores D2 a dopamina. Los medicamentos atípicos actúan sobre los receptores 5HT2A de la 5-hidroxitriptamina (serotonina), al igual que sobre los receptores dopaminérgicos. El uso de este tipo de medicamentos permite controlar los síntomas positivos. Los antipsicóticos atípicos presentan distintas propiedades entre sí y son considerados un grupo más heterogéneo en comparación a los típicos. El medicamento que se administra depende de la sintomatología que presenta cada paciente con esquizofrenia. El antipsicótico ideal es aquel que logre restituir el equilibrio de los sistemas alterados, que produzca una menor cantidad de efectos secundarios y que disminuyan los síntomas por presentar una mejor respuesta farmacológica (Escamilla, 2019). Sin embargo, se ha reportado que sólo el 33% de los pacientes responden de una manera adecuada al tratamiento con antipsicóticos después de tres meses, mientras que 1 de cada 3 pacientes presentan una respuesta parcial al tratamiento (Fond *et al.*, 2020).

En psiquiatría se tiene la dificultad para evaluar consistentemente la respuesta farmacológica, por esta razón, se usan aproximaciones que pretenden convertir observaciones clínicas en medidas más objetivas mediante la impresión subjetiva

clínica, para esto se utilizan escalas clinimétricas (Leucht et al. 2005). Uno de los principales cuestionarios clínicos utilizados para evaluar la gravedad de los síntomas y la respuesta al tratamiento en la esquizofrenia es la escala PANSS (Positive and Negative Symptom Scale) (Fresan A et al., 2005; Fong TC et al., 2015; Escamilla, 2019). Podemos decir que un paciente responde a un tratamiento farmacológico cuando disminuye el nivel de severidad de los síntomas, sin embargo, no existe un consenso con respecto al porcentaje de reducción de la gravedad en la sintomatología al utilizar este tipo de escalas para redefinir el tipo de respuesta. Al respecto, se ha sugerido considerar a los pacientes refractarios cuando se encuentra un rango entre el 10 y 50% de la reducción de los síntomas, mientras que los pacientes que se encontraban en un episodio agudo de la enfermedad suelen presentar niveles más altos de respuesta que van de un 50 a un 75% de reducción (Suzuki et al., 2011; Escamilla, 2019).

## Epidemiología de la esquizofrenia

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la esquizofrenia afecta a más de 21 millones de personas en todo el mundo, siendo más frecuente en hombres (12 millones) que en mujeres (9 millones) (OMS, 2019). La esquizofrenia presenta una prevalencia aproximada del 1%, y está clasificada como la 12<sup>a</sup> causa de discapacidad mundial en relación con otras 310 enfermedades psiquiátricas y no psiquiátricas (Vos *et al.*, 2016). Se han reportado diferencias por género en pacientes con esquizofrenia. Por ejemplo, con respecto a la edad de inicio del trastorno, los hombres tienden a debutar con esquizofrenia a una edad más temprana en comparación con las mujeres; específicamente los hombres presentan su primer episodio psicótico entre los 20 y los 24 años, en cambio las mujeres

pueden presentar su primer síntoma entre los 30 y los 32 años (Castle *et al.*, 1998; Eranti *et al.*, 2013; Aleman *et al.*, 2003).

El rango de severidad de la esquizofrenia es variable y puede abarcar desde una recuperación parcial de la sintomatología, hasta una necesidad de cuidado permanente, en donde la esperanza de vida se reduce hasta 20 años en comparación con la población sana (Kahn *et al.* 2015). Estudios clínicos muestran una mayor gravedad de los síntomas en los hombres en comparación con las mujeres (Kahn *et al.* 2015; Eranti *et al.* 2013). En general, los pacientes con esquizofrenia presentan un riesgo 2.5 veces mayor a morir por suicidio al igual que por enfermedades cardiovasculares y metabólicas (OMS, 2019; Kahn *et al.*, 2015); el desarrollo de estas últimas patologías se ha reportado como un efecto adverso relacionado con el uso de los tratamientos antipsicóticos (Kahn *et al.*, 2015).

## Factores involucrados en el desarrollo de esquizofrenia

La esquizofrenia se considera un trastorno multifactorial, por lo cual tenemos que considerar diversos factores que contribuyen al desarrollo de dicha psicopatología. Es importante destacar que distintos factores pueden actuar en conjunto, y aumentar así la vulnerabilidad a desarrollar esquizofrenia; sin embargo, el ser portador de algún factor de riesgo no necesariamente conduce a desarrollar dicho trastorno (WHO, 2019). Un meta-análisis realizado por Cannon y colaboradores (2002) mostró una asociación entre complicaciones durante el embarazo con el desarrollo de esquizofrenia en la prole al alcanzar la adultez temprana. Del mismo modo, se ha sugerido que un neurodesarrollo anormal durante etapas perinatales, al igual que en la adolescencia temprana, puede llevar a disfunciones



en redes neuronales, lo cual puede repercutir en que las personas puedan desarrollar esquizofrenia en etapas más adultas (Kahn et al. 2015). Aunado a esto, alteraciones del sistema inmune, en conjunto con factores genéticos y ambientales, pueden contribuir a procesos anormales en el neurodesarrollo, y con ello al desarrollo de esquizofrenia (Altamura *et al.* 2013).

Por otra parte, el uso continuo de sustancias de abuso como anfetaminas, metanfetaminas y cocaína puede producir síntomas parecidos a los de la esquizofrenia paranoide (Murray *et al.* 2013). Se han realizado estudios en los cuales al administrar *Cannabis* o su ingrediente psicoactivo delta-9-tetrahidrocannabinol, se pueden desencadenar síntomas psicóticos transitorios (Schoeler *et al.* 2016). Estudios prospectivos han mostrado que personas jóvenes que consumen *Cannabis* frecuentemente presentan un riesgo mayor a desarrollar esquizofrenia y esto está relacionado con la dosis de consumo (Malaspina *et al.* 2001).

Otro factor de riesgo reportado son las adversidades sociales en la niñez, las cuales incluyen abuso físico, abuso sexual, maltrato y acoso escolar; este tipo de eventos adversos aumentan el riesgo a desarrollar esquizofrenia (Stilo y Murray, 2010). Un estudio realizado por Bears y colaboradores (2013) mostró un aumento de 3.19 veces el riesgo a desarrollar psicosis en personas con una mayor cantidad de eventos traumáticos.

Todos los factores ambientales descritos anteriormente desempeñan un papel importante en el desarrollo de la esquizofrenia; sin embargo, no explican en su

totalidad el desarrollo del trastorno, por lo cual se han propuesto factores genéticos asociados.

## Epidemiología genética en la esquizofrenia

Los estudios de epidemiología genética realizados en familias, gemelos y adopción sugieren que la predisposición a padecer esquizofrenia es una de las más altas entre todos los desórdenes psiquiátricos, donde la heredabilidad es aproximadamente del 81%, lo cual sugiere la existencia de factores genéticos asociados a la etiología de la esquizofrenia (Fatemi y Clayton, 2008).

### Estudios en familias

Los estudios de familia son la principal fuente de evidencia que sugiere un papel fundamental de factores genéticos asociados con los trastornos psiquiátricos. Estos estudios nos permiten determinar la agregación de un fenotipo de interés en una familia en comparación con la población en general (Merikangas, 2012). Existen diversos estudios que muestran evidencia sobre el modelo de herencia de la esquizofrenia en familias con múltiples afectados y la variabilidad en la sintomatología con que se presenta (Meltzer y Fatemi, 2000; Sullivan *et al.*, 2006; Carter, 2006; Niculescu *et al.* 2006), esto se debe a que la esquizofrenia tiene una etiología heterogénea y distintos tipos de genes pueden estar involucrados en su desarrollo (Fatemi y Clayton, 2008).

### Estudios en gemelos

Los estudios en gemelos tienen como objetivo determinar el papel que los factores genéticos y ambientales desempeñan en el origen del fenotipo de interés. Esto se

logra al comparar la concordancia fenotípica entre gemelos monocigóticos y dicigóticos. Los monocigóticos se caracterizan por compartir el 100% de su material genético, mientras que los dicigóticos comparten el 50%. Si se encuentra una mayor frecuencia de concordancia fenotípica de los gemelos monocigóticos en comparación con los dicigóticos, se infiere la existencia de factores genéticos involucrados en el origen de la conducta (Merikangas, 2012). Un meta-análisis realizado por Sullivan (2003) con 12 estudios en gemelos diagnosticados con esquizofrenia sugirió una concordancia fenotípica del 45% en los gemelos monocigóticos y de 14% en gemelos dicigóticos, lo cual sugiere la existencia de factores genéticos involucrados en el desarrollo de la esquizofrenia.

### Estudios de adopción

Los estudios de adopción analizan la similitud fenotípica de un individuo adoptado y sus padres biológicos comparado con sus padres adoptivos. Cuando el fenotipo es compartido por el sujeto adoptado y sus padres biológicos, indica la presencia de factores genéticos asociados. En el caso de que el sujeto adoptado comparta el fenotipo con sus padres adoptivos, entonces se dice que existe un componente ambiental asociado con el desarrollo de la enfermedad (Merikangas, 2012). Una aportación hecha por Heston (1966), en donde se analizó a 49 padres biológicos de individuos adoptados con esquizofrenia y 49 padres adoptivos de individuos con esquizofrenia, encontró una concordancia fenotípica sobre los trastornos del espectro esquizofrénico del 18.8% en los pacientes con sus padres biológicos, mientras que con los padres adoptivos fue del 10.7%.

Los estudios de familia, gemelos y adopción nos proporcionan evidencia sobre la participación de factores genéticos asociados con la etiología de la esquizofrenia.

## Farmacogenética

Es la disciplina que estudia los factores genéticos y su asociación con la respuesta farmacológica y las reacciones adversas al tratamiento. El objetivo de la farmacogenética es contribuir a optimizar el tratamiento farmacológico contra distintas enfermedades a nivel individual, al tratar de dirigirlo hacia una terapia personalizada, segura y eficiente. Con esto, se lograría determinar previamente cual sería el fármaco apropiado para un paciente en particular y la dosis efectiva. Asimismo, se busca obtener una menor cantidad de efectos adversos causados por los fármacos, al igual que un aumento en la efectividad farmacológica. En psiquiatría, se han llevado a cabo investigaciones dirigidas a identificar el componente genético de distintas psicopatologías; los primeros estudios se centraban en psicopatologías asociadas a un solo gen; sin embargo, en la mayoría de los trastornos y alteraciones de la conducta están asociados múltiples genes (Salamanca, 2014).

## Estudios de asociación del genoma completo (GWAS)

Mediante los estudios de asociación del genoma completo (GWAS) se han logrado identificar diversos genes de diferentes vías neurobiológicas, los cuales podrían conferir un riesgo a desarrollar esquizofrenia. Publicaciones recientes asocian a genes reguladores de la respuesta inmune con la esquizofrenia (Corvin y Morris, 2013; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, 2014).

Uno de los GWAS más grandes reportados hasta el momento (Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study Consortium, 2014), sugiere una asociación de la esquizofrenia con regiones génicas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) el cual se ubica en el cromosoma 6p21.3- 6p22.1 (Purcell et al., 2009; Shi et al., 2009). La región del MHC está conformada por más de 200 genes, los cuales codifican para reguladores maestros del sistema inmune, así como genes que codifican al antígeno leucocitario humano (HLA), genes de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF) y genes complementarios de las diversas cascadas de señalización de la respuesta inmune (Pouget *et al.* 2019).

## Inflamación en esquizofrenia

Desde hace dos décadas, se ha propuesto una relación estrecha entre la inflamación y la esquizofrenia debido a la aparición de diversos síntomas de dicho trastorno en varias enfermedades inflamatorias (Tomasik et al, 2014; Müller, 2018). Aunado a lo anterior, se ha propuesto una asociación entre infecciones maternas durante el periodo de gestación con el desarrollo de esquizofrenia en los hijos al llegar a la juventud (Vuillermont et al. 2010; Sørensen et al. 2009; Dalman et al. 2008). Un estudio realizado por Brown y colaboradores (2004) muestra que en mujeres diagnosticadas con influenza durante el primer trimestre de embarazo el riesgo de que su descendencia desarrolle esquizofrenia aumenta 7 veces.

Diversas investigaciones se han centrado en identificar cambios en los niveles de mediadores bioquímicos del sistema inmune, es decir citocinas y quimiocinas tanto a nivel periférico como central, en pacientes con esquizofrenia para tratar de elucidar el papel que desempeña la respuesta inmune en este padecimiento

(Khandaker, 2017; Goldsmith *et al.* 2016; Fond *et al.* 2020). Al respecto, un meta-análisis realizado por Goldsmith y colaboradores (2016) mostró un aumento en los niveles de citocinas proinflamatorias en sangre periférica de pacientes con esquizofrenia en distintas fases de la enfermedad. En este estudio se encontró un aumento de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), interleucinas (IL) IL-1, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, al igual que del receptor soluble de IL-2 (sIL-2R), del factor de crecimiento tumoral beta (TGF- $\beta$ ), del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y una disminución en los niveles de IL-4 en pacientes con esquizofrenia durante su primer episodio psicótico. En una etapa aguda del trastorno, se observó un incremento de IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12, sIL-2R, TGF- $\beta$  y TNF- $\alpha$  y una disminución de IL-4 e IL-10 en pacientes con esquizofrenia comparado contra controles sanos. Por otra parte, en una fase crónica del trastorno se ha observado un incremento en los niveles de IL-6, TNF- $\alpha$ , sIL-2R, IL-1 $\beta$  y una disminución de IFN- $\gamma$  (Fond *et al.* 2020). Es importante notar que, entre las moléculas pro-inflamatorias analizadas, la IL-1 $\beta$ , IL-6, sIL-2R y TNF- $\alpha$  se mantienen incrementadas en todas las fases de la esquizofrenia.

Estudios *in vitro* muestran una disminución en la producción de IL-2 y de IFN- $\gamma$  en células sanguíneas de pacientes con esquizofrenia (Wilke *et al.*, 1996; Müller *et al.*, 2000). Otros estudios han reportado niveles disminuidos de IFN- $\gamma$  en sangre periférica (Schwarz *et al.*, 2001; Avgustin *et al.*, 2006; Chiang *et al.*, 2004), al igual que un aumento en los niveles de inmunoglobulina E (IgE), IL-6, sIL-2R (Schwarz *et al.* 2001) en pacientes diagnosticados con esquizofrenia. Del mismo modo, un estudio mostró asociación entre niveles séricos disminuidos de IL-10 y la gravedad de los episodios psicóticos de pacientes esquizofrénicos (van Kammen *et al.*, 1997).

Asimismo, se han reportado alteraciones en los niveles de IL-2, IFN- $\gamma$ , IgG, IL-4 y de la molécula de adhesión intracelular soluble 1 (sICAM-1) en líquido cefalorraquídeo de pacientes con esquizofrenia (Schwarz *et al.*, 2001). Todos estos estudios apuntan a que las alteraciones en la respuesta inmune que se encuentran en los pacientes podrían estar relacionadas con la etiología de la esquizofrenia.

## Efectos de los tratamientos antipsicóticos sobre la respuesta inmune

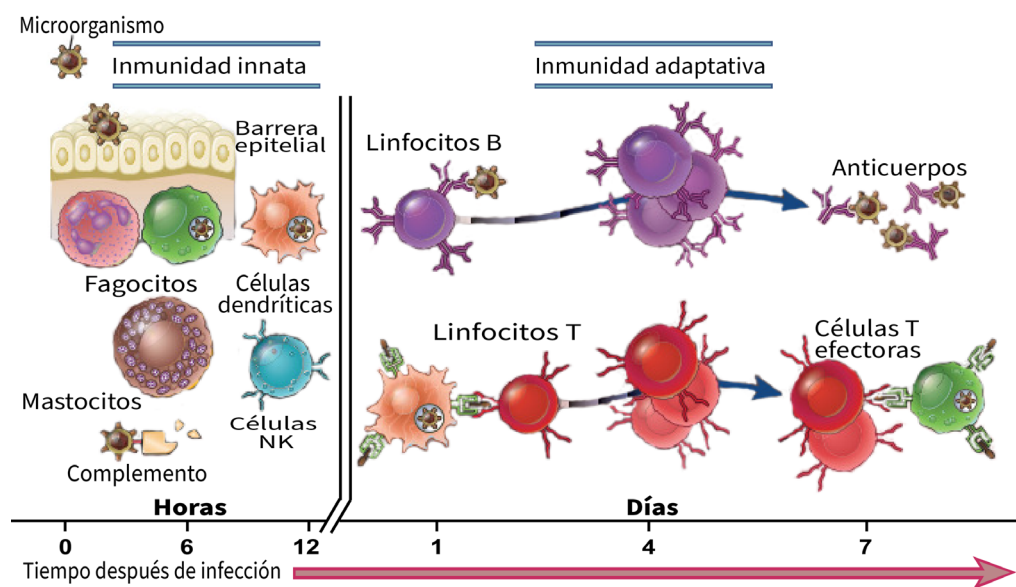
Diversos estudios sugieren la existencia de interacciones entre los antipsicóticos y moléculas asociadas a la inmunidad y la respuesta inflamatoria en pacientes con esquizofrenia (Müller y Schwarz, 2007). Uno de los primeros estudios *in vitro* realizado por Wilke y colaboradores (1994) muestra una normalización de los niveles de IFN- $\gamma$  en células sanguíneas de pacientes con esquizofrenia, al ser tratadas con antipsicóticos. Otro estudio reporta un aumento de sIL-2R en pacientes con esquizofrenia mientras se encuentran sometidos a un tratamiento con antipsicóticos (Müller *et al.*, 1997). Del mismo modo, se ha reportado un aumento en la expresión del antígeno 1 asociado a la función de linfocitos (LFA-1), de la sICAM-1 y del ligando de ICAM-1 en linfocitos aislados de sangre periférica durante el tratamiento con antipsicóticos (Schwarz *et al.*, 2000; Müller *et al.*, 1999). Con base en lo anterior, se ha sugerido que el uso de antipsicóticos podría estar relacionado con alteraciones en el sistema inmune y la respuesta inflamatoria (Müller y Schwarz, 2007).

La síntesis de las moléculas pro y antiinflamatorias antes mencionadas son resultado de la activación de la respuesta inmune, por lo tanto, se ha sugerido que

esta vía podría estar asociada con el desarrollo de esquizofrenia (García Bueno *et al.* 2016a y 2016b).

## La respuesta inmune innata

La defensa contra microorganismos es mediada por una respuesta coordinada llamada inmunidad innata y adaptativa. La respuesta inmune innata es fundamental en las primeras horas después de ser infectado y se caracteriza por una acción rápida. Por otra parte, tenemos a la respuesta inmune adaptativa, la cual es estimulada por la exposición a agentes infecciosos y aumenta en magnitud y capacidades defensivas con cada exposición sucesiva a un microorganismo en específico (Figura 1). Es importante destacar que ambas respuestas desempeñan un papel cooperativo, ya que la respuesta inmune innata permite enviar señales de peligro tempranas que estimulan la respuesta inmune adaptativa. Así mismo, la respuesta inmune adaptativa potencia los mecanismos protectores de la respuesta inmune innata, logrando una mejor eficiencia sobre el reconocimiento y eliminación de microorganismos (Abbas *et al.*, 2018).



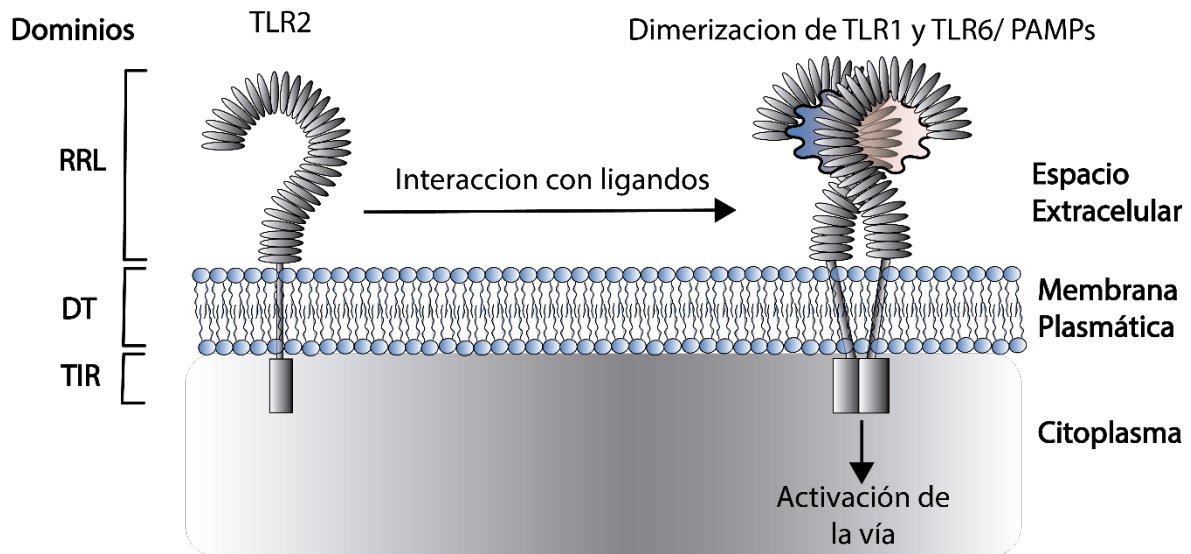


**Figura 1.** Representación esquemática de la respuesta inmune innata y adaptativa. La respuesta inmune innata es considerada la primera línea de defensa contra microorganismos dentro de las primeras horas de la infección. La respuesta inmune adaptativa necesita una previa activación de linfocitos. La cinética de la respuesta inmune innata y adaptativa pueden variar de acuerdo con el tipo de infección (Tomado de Abbas *et al.* 2018).

La respuesta inmune innata es considerada la primera línea de defensa contra distintas moléculas exógenas y endógenas. En este tipo de respuestas, las células utilizan una gran variedad de receptores reconocedores de patrones (PRRs), los cuales son esenciales para detectar moléculas derivadas de microorganismos patógenos (PAMPs: pathogen-associated molecular patterns) como bacterias, virus y parásitos (Abbas *et al.* 2018), así como moléculas endógenas indicadoras de estrés o daño tisular conocidas como DAMPs (damage-associated molecular patterns). Dentro de los PRRs podemos ubicar a los receptores de lectina tipo C (CLRS), receptores tipo NOD (NLRs), receptores tipo RIG (RLRs), receptores tipo AIM2 (ALRs) y a los receptores tipo toll (TLRs), los cuales fueron la primera familia de PRRs en identificarse y por lo tanto la más estudiada (Brubaker *et al.* 2015).

## Estructura de los TLRs

Los TLRs pertenecen a una familia de receptores celulares, que se caracterizan por ser proteínas transmembranales tipo 1 que presentan repeticiones ricas en leucinas (RRLs) ubicadas en la región N-terminal, y un dominio TIR (receptor a interleucina 1/ Toll) en la región C-terminal. La región N-terminal forma una estructura en forma de herradura, la cual permite y media el reconocimiento de patrones moleculares exógenos y endógenos (Bell *et al.* 2003). Por otra parte, el dominio TIR en la región C-terminal, permite la unión de moléculas adaptadoras, las cuales son las encargadas de iniciar la transducción de señales (Chen *et al.* 2019) (Figura 2).



**Figura 2.** Representación esquemática de la estructura de los receptores TLRs. Se ilustra a TLR2 y TLR6 como ejemplo. La estructura general de estos receptores consta de tres dominios: RRL, repeticiones ricas en leucinas; DT, un dominio transmembranar; y un dominio TIR, receptor de interleucina 1 tipo toll. Para la interacción del receptor con su ligando es necesaria la formación de dímeros entre miembros de la misma subfamilia para llevar a cabo la activación de la respuesta inmune innata (Modificado de Chen *et al.* 2019).

Hasta la fecha, se han identificado diez TLRs en humanos y trece en ratones. Con base en la ubicación de dichos receptores, se pueden agrupar en dos subfamilias: receptores de membrana plasmática, los cuales incluyen a los receptores TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 y TLR6 y receptores de endolisosomas, que incluyen a TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9 (Roach *et al.* 2005; Wang *et al.* 2016). Cabe destacar, que los receptores de la misma subfamilia tienden a formar heterodímeros para detectar ligandos específicos, como es el caso de TLR2, el cual se dimeriza con TLR1 o TLR6 para reconocer una mayor cantidad de PAMPs (Figura 2) (Koblansky *et al.* 2013). A nivel de SNC, estos receptores se expresan en microglía, astrocitos, oligodendrocitos y, en menor proporción en neuronas (Hanke y Kiellan, 2011; Okun *et al.* 2011; Vidya *et al.*, 2017; Tang *et al.*, 2007), en donde la activación de los TLRs mediante PAMPs y DAMPs puede desencadenar procesos de neurogénesis (Rolls

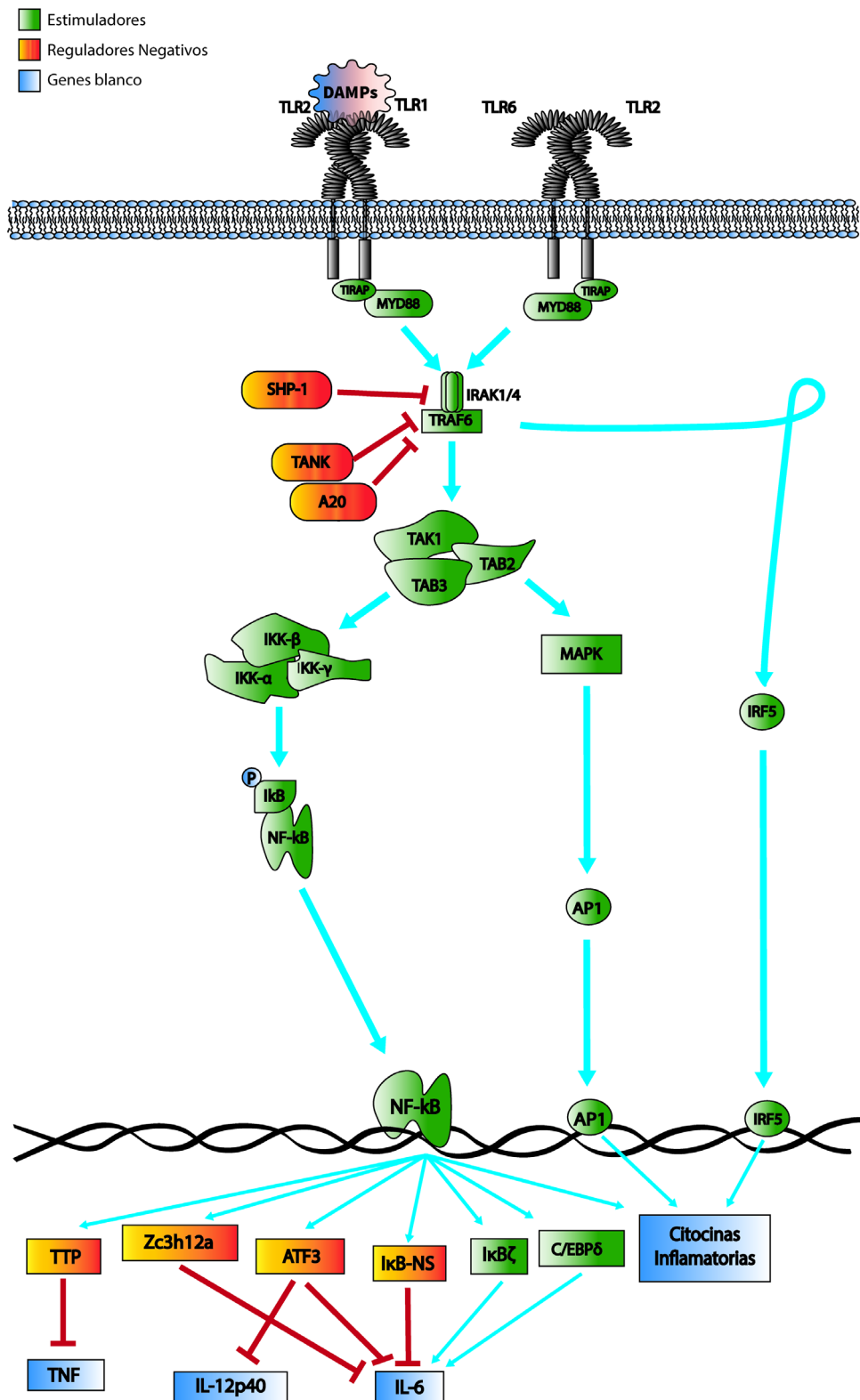
*et al.*, 2007), diferenciación y maduración neuronal (Liu HY *et al.* 2014; Barak *et al.* 2014). Se han reportado estudios realizados en modelos animales que sugieren una participación de los TLRs en la regulación de la proliferación de células progenitoras neurales y la morfología neuronal, inclusive en ausencia de agentes infecciosos o daño tisular (Chen *et al.*, 2019).

## Vía de señalización de los TLRs para la iniciación de la inmunidad innata

La activación de la vía de señalización de los TLRs es mediada por cuatro adaptadores que contienen dominios TIR y su unión con la proteína de respuesta primaria de diferenciación mieloide 88 (MyD88), el interferón  $\beta$  inductor de adaptador con dominio TIR (TRIF), la proteína adaptadora con dominio TIR (TIRAP) y la molécula adaptadora asociada a TRIF (TRAM) (Yamamoto *et al.*, 2003). La cascada de señalización difiere entre los distintos TLRs. En el caso de TLR1, TLR2 y TLR6, tras la unión del ligando a su receptor, ocurre la formación de heterodímeros u homodímeros para llevar a cabo la transducción de señales (Figura 1) (Chen *et al.*, 2019). Al estar el receptor activo, se recluta MyD88 de manera indirecta mediante TIRAP. Posteriormente, MyD88 se encarga de reclutar y activar a la cinasa 4 asociada al receptor de interleucina (IRAK4), la cual fosforila y activa a IRAK1. El complejo IRAK1/4 activa al factor 6 asociado al receptor de TNF (TRAF6), el cual es una ubiquitina ligasa capaz de poliubiquitinar al complejo de inhibidores del factor nuclear kappa (IKK) con la finalidad de llevar a su degradación para la liberación del factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B). Al estar NF- $\kappa$ B libre en el citosol, es capaz de translocarse al núcleo e inducir la expresión de citocinas inflamatorias e interferones tipo 1, como IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , e IL-12 (Herrero,

2010; Chen *et al.*, 2019). Por otra parte, TRAF6 recluta a la cinasa activada por TGF- $\beta$  (TAK1), la cual induce la activación de la vía de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK). Esta vía es capaz de activar a la proteína activadora tipo 1 (AP-1), lo cual desencadena un incremento en la transcripción de citocinas, la producción de moléculas de adhesión y la liberación de moléculas pro y antiinflamatorias (Kawai y Akira, 2010) (Figura 3).

Ya que los TLRs tienen un papel crucial para la activación de esta vía de la respuesta inmune innata, y se ha mostrado evidencia que dicha vía se encuentra alterada en pacientes con esquizofrenia, se puede sugerir que los TLRs están involucrados en la fisiopatología de dicho trastorno.



**Figura 1. Vía de señalización mediada por TLR1/TLR2 y TLR2/TLR6T.** Las respuestas mediadas por TLR están controladas principalmente por la vía dependiente de MyD88, que es utilizada por todos los TLR excepto TLR3. TIRAP es un adaptador utilizado por distintos tipos de TLRs, en este caso los dímeros TLR1/TLR2 y TLR2/TLR6T. En células nerviosas, MyD88 recluta a IRAK4, IRAK1, IRAK2 al igual que TRAF6 para inducir una respuesta inflamatoria mediante la activación de IRF5, lo cual lleva a la producción de citocinas inflamatorias. Por otra parte, TRAF6 activa a TAK1 mediante la formación del complejo con TAB2/TAB3, lo cual conlleva a la activación del complejo IKK que consiste en NEMO (IKK- $\gamma$ ) e IKK $\alpha/\beta$ , el cual cataliza proteínas I $\kappa$ B para fosforilar y posterior liberación de NF- $\kappa$ B. Este puede inducir a C/EBP $\delta$  y/o a I $\kappa$ B $\zeta$  los cuales tienen una influencia positiva en los genes que codifican a IL-6 o pueden inducir a I $\kappa$ B-NS, Zc3h12a, ATF3 y a TTP los cuales influyen negativamente en los genes que codifican a IL-6, IL-12p40 o TNF. (Modificado de Kaway y Akira, 2010; Chen *et al.* 2019).

## Los TLRs y la esquizofrenia

Un estudio realizado en roedores muestra que una activación inmunológica en periodos prenatales da como resultado deficiencias en la conducta dependientes del género. Por ejemplo, la activación inmune materna mediante microorganismos desencadena la activación de TLR3, lo cual provoca conductas tipo-esquizofrénicas en ratones macho, pero no en hembras (Okun *et al.*, 2010)

Otro estudio realizado en modelos murinos muestra que alteraciones de algunos TLRs pueden causar trastornos en el neurodesarrollo y anomalías conductuales, como problemas en el aprendizaje y la memoria. Un estudio realizado por Park y colaboradores (2015) en roedores muestra evidencias sobre una hiper-locomoción, un mayor número de comportamientos tipo-ansiosos, así como un aumento en el retraimiento social y cognitivo en ratones *knock-out* de *TLR2* en comparación con los controles. Del mismo modo se observó un alargamiento de los ventrículos cerebrales en los ratones *knock-out*. Las alteraciones en la conducta se asemejan a los síntomas característicos de la esquizofrenia.

Existen reportes que sugieren un aumento en el riesgo a desarrollar trastornos psiquiátricos como esquizofrenia y autismo, al presentar una activación de los TLRs en estadios tempranos del desarrollo fetal (Haddad *et al.* 2019; Gumusoglu y Stevens, 2019). Se ha propuesto que los TLRs, al ser proteínas que se expresan en la placenta y el cerebro en desarrollo, podrían modular los procesos inmunológicos e inflamatorios en respuesta a infecciones durante la gestación (Bejar *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2006).

Respecto a la expresión génica de los TLRs, un estudio realizado por Kozłowska y colaboradores (2018) reporta una disminución de los transcritos de *TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR6* y *TLR9* y una sobre-expresión de los genes *TLR3* y *TLR7* en pacientes esquizofrénicos europeos en comparación con una muestra control. Por otra parte, un estudio realizado por Kéri y colaboradores (2017) mostró que diversas alteraciones en la expresión de los genes *TLR2*, *TLR4* y *TLR5* pueden ser más fácilmente detectadas en etapas tempranas de la esquizofrenia y también pueden ser moduladas por el uso de antipsicóticos. Con base en los estudios pre-clínicos y clínicos descritos anteriormente, se sugiere una posible asociación con los TLRs y el desarrollo de esquizofrenia.

## Los genes *TLR* en la esquizofrenia

En psiquiatría, se han llevado a cabo investigaciones dispuestas a develar el componente genético de distintas psicopatologías, entre ellas la esquizofrenia. Al inicio, los estudios se centraban en psicopatologías asociadas a un solo gen; sin embargo, en la mayoría de los trastornos y alteraciones de la conducta se involucran múltiples genes.

Específicamente los genes *TLR1* y *TLR6*, ubicados en el cromosoma 4 p14, y el *TLR2*, ubicado en el cromosoma 4q31.3, han mostrado una disminución en su expresión génica en pacientes con esquizofrenia, sin embargo, las causas de dicha alteración no se han descrito. Se han reportado millones de variantes polimórficas dentro de cada gen, sin embargo, existen SNPs asociados con distintas patologías neurodegenerativas y enfermedades relacionadas con la respuesta inmune.

Las variantes del gen *TLR1* rs4833095, rs5743596 y rs4833093 se asocian con lepra y tuberculosis, las variantes del gen *TLR2* rs3804099, rs7656411 y rs5743709 se asocian con un mayor riesgo a contraer infecciones bacterianas y Parkinson, y las variantes polimórficas del gen *TLR6* rs5743810, rs3775073 y rs5743827 se asocian a aterosclerosis, dermatitis y sepsis respectivamente (Dargiene *et al.*, 2018; Stevens *et al.*, 2008; Zhang *et al.* 2018; Shurz *et al.* 2015; Shey *et al.*, 2010; Bairagya *et al.*, 2008). Las características de los polimorfismos de interés se muestran en la tabla 1.

Mediante los estudios de asociación genética, es posible identificar genes candidatos utilizando marcadores biológicos como los SNPs los cuales podrían estar relacionados con el desarrollo de la esquizofrenia (Salamanca, 2014).

Mediante técnicas de biología y de genética molecular, se ha sugerido un papel funcional de los SNPs en regiones de genes codificantes y no codificantes, los cuales pueden alterar la expresión génica, el corte y empalme, la traducción, la alteración de la estructura y de la función proteica, al igual que la de los microRNAs (miRNA) y la estabilidad de los RNA mensajeros (mRNA) (Ramírez-Bello y Jiménez-Morales, 2017).

Por tal razón, se sugiere que SNPs ubicados en genes como *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* podrían modificar la expresión de los receptores, lo cual podría alterar la vía de señalización y conferir un aumento en el riesgo a desarrollar esquizofrenia.



**Tabla 1.** Características generales de los polimorfismos de interés en los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6*.

Gen	Numero de exones	Polimorfismo	No. Ensayo	Cambio	Tipo	ubicación
<b><i>TLR1</i> 4p14</b>	6	rs4833095	C_44103606_10	C/T	No sinónimo	Exón 4
		rs5743596	C_30687147_10	A/G	-----	UTR 5´
		rs4833093	C_44103593_10	G/T	-----	Intrón
<b><i>TLR2</i> 4q31.1</b>	5	rs3804099	C_22274563_10	C/T	Sinónimo	Exón 3
		rs7656411	C_29420880_10	T/G	-----	UTR 3´
		rs5743709	C_25607728_10	A/G	Sinónimo	Exón 3
<b><i>TLR6</i> 4p14</b>	6	rs5743810	C_1180648_20	A/G	No sinónimo	Exón 2
		rs3775073	C_25809256_30	T/C	Sinónima	Exón 2
		rs5743827	C_1180651_20	C/T	-----	UTR 3´

## JUSTIFICACIÓN

La esquizofrenia presenta una prevalencia del 1%, y está clasificada como la 12<sup>a</sup> causa de discapacidad a nivel mundial. y Se ha estimado que las personas con esquizofrenia presentan un riesgo 2.5 mayor a morir a una edad más temprana en comparación con la población en general. Por otra parte, la heredabilidad en este padecimiento es una de las más altas en comparación con otros trastornos psiquiátricos, la cual es aproximadamente del 81%. La identificación de factores genéticos que pudieran estar asociados con la etiología de la esquizofrenia y la respuesta farmacológica a los distintos antipsicóticos utilizados en la clínica, es de suma importancia, ya que podrían ser utilizados como marcadores para un diagnóstico más temprano y certero, al igual que para ofrecer a los pacientes un tratamiento más eficiente y con menos efectos adversos. En este sentido, aunque se ha sugerido que la respuesta inmune desempeña un papel importante en la esquizofrenia, este tema ha sido poco estudiado. Por esta razón, resulta

fundamental realizar estudios de asociación genética para identificar genes como *TLR1*, *TLR2* y *TLR6*, los cuales codifican para proteínas clave para la activación de la de la respuesta inmune innata, están asociados con la esquizofrenia.

Existen reportes sobre una deficiencia en la expresión de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* en pacientes esquizofrénicos de otras poblaciones. Sin embargo, hasta la fecha, no existen reportes sobre estudios de asociación o análisis de expresión génica realizados en población mexicana que involucren a moléculas que participen en el sistema inmune y el desarrollo de la esquizofrenia.

---

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

---

¿Existe asociación entre variantes polimórficas de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* con el diagnóstico de esquizofrenia y la respuesta farmacológica en población mexicana?

---

## **HIPÓTESIS**

---

Variantes polimórficas de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* se encuentran asociadas con la etiología de la esquizofrenia y la respuesta farmacológica.

---

## **OBJETIVO GENERAL**

---

Analizar polimorfismos de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* y su asociación con la esquizofrenia comparado con un grupo de controles sanos y con la respuesta a los antipsicóticos.

---

## OBJETIVOS PARTICULARES

---

- 1) Analizar la asociación entre los polimorfismos de los genes *TLR1* (rs4833095, rs5743618 y rs5743596), *TLR2* (rs3804099, rs13105517 y rs5743709) y *TLR6* (rs5743810, rs2381288 y rs3775073) y la esquizofrenia comparado con un grupo de controles sanos.
- 2) Realizar un análisis de haplotipos de las variantes de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* en pacientes con esquizofrenia comparado contra un grupo de controles sanos
- 3) Realizar un estudio de interacción gen-gen (GxG) entre *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* en pacientes con esquizofrenia y sujetos control.
- 4) Analizar la relación entre las variantes polimórficas de los genes analizados con la respuesta al tratamiento farmacológico con antipsicóticos.

---

## METODOLOGÍA

---

### Descripción de la muestra

#### Muestra de casos

La muestra incluyó a 300 pacientes provenientes de la clínica de esquizofrenia del Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM).

## Criterios de inclusión de pacientes

Pacientes hombres y mujeres mayores de 18 años, de nacionalidad y ascendencia mexicana, con diagnóstico psiquiátrico principal para esquizofrenia de acuerdo con los criterios del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM-5), que aceptaran participar voluntariamente en el estudio mediante la firma de la carta de consentimiento informado. Que los pacientes tuvieran tratamiento con antipsicóticos de primera o de segunda generación.

## Criterio de exclusión de pacientes

Que el paciente presentara enfermedad inmunológica, no haber aceptado proporcionar una muestra de sangre periférica y haber retirado el consentimiento voluntario para participar en el estudio.

## Muestra de controles

Las muestras se obtuvieron del banco de ADN genómico (ADNg) del Departamento de Farmacogenética del INPRFM.

## Criterios de inclusión de controles

Hombres y mujeres con una edad mínima de 20 años, de nacionalidad y ascendencia mexicana, que mediante una entrevista psiquiátrica se comprobó ser sanos mentalmente, no haber presentado antecedentes heredofamiliares de ningún trastorno psiquiátrico y aceptó participar en el estudio mediante la firma de la carta de consentimiento informado.

## Criterios de exclusión de controles

Haber presentado o tener antecedentes familiares de alguna enfermedad inmunológica, no haber proporcionado una muestra sanguínea o que negara el consentimiento voluntario para participar en el estudio.

## Respuesta al tratamiento con antipsicóticos

Para la clasificación de pacientes respondedores y no respondedores se determinó como respondedores a los pacientes que presentaron una reducción del 50% de la calificación basal de la sintomatología a los 6 meses de recibir tratamiento antipsicótico. La no respuesta se definió para los sujetos que presentaron una reducción menor del 50% de la sintomatología a los 6 meses de tratamiento. La medición de la sintomatología psicótica se realizó mediante la aplicación de la escala PANSS (Kay *et al.* 1987).

## Análisis genético

### Extracción de ADNg

La extracción se realizó a partir de 10 mL de sangre periférica recolectada en tubos vacutainer con EDTA. Las muestras sanguíneas se centrifugaron a 2000 g a 4°C por 10 min para la obtención de leucocitos (*buffy coat*). Posteriormente, se obtuvo el ADN utilizando el kit *FlexiGene* (Qiagen). El ADNg se disolvió en TRIS-EDTA y se almacenó a 4°C hasta su uso. La concentración de DNAg total se determinó espectrofotométricamente a 260nm con el equipo NanoDrop 2000 (Thermo

Scientific). Finalmente se prepararon las muestras *stock* a una concentración de 500 ng/ $\mu$ L y las muestras de trabajo a 50 ng/ $\mu$ L.

## Genotipificación por PCR en Tiempo Real

La genotipificación de los polimorfismos rs4833095, rs5743596, rs4833093 del gen *TLR1*; rs3804099, rs7656411, rs5743709 del gen *TLR2*; y rs5743810, rs3775073, rs5743827 del gen *TLR6*, se llevó a cabo mediante discriminación alélica por PCR en tiempo real (Applied Biosystems StepOne™), con sondas TaqMan®. El volumen final de reacción fue de 7  $\mu$ L: 2  $\mu$ L de DNAg, 2.5  $\mu$ L de Master Mix II, 2.367  $\mu$ L de agua para PCR (Lonza) y 0.125  $\mu$ L de sonda TaqMan® 40X. Las características de las sondas y el número de ensayo se representan en la tabla 1. El protocolo de la reacción consistió en una fase de mantenimiento a una temperatura de 95°C por 10 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 95°C por 15 segundos y un minuto de alineación y extensión a 60°C. La amplificación se llevó a cabo con el equipo 7500 Real Time PCR System con el software SDS v2.1 (Applied Biosystems StepOne™).

## Análisis de frecuencias de genotipos y alelos

El análisis de genotipos y alelos se llevó a cabo mediante el programa Epidat (Análisis epidemiológico de datos, versión 4.2), con el cual se realizó la comparación de las frecuencias de las 9 variantes polimórficas correspondientes a los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* entre pacientes y controles.

Del mismo modo, se analizó la frecuencia de genotipos y alelos de los pacientes respondedores al tratamiento con antipsicóticos, en comparación con los que no responden.

### Análisis de haplotipos

Se analizó si las variantes polimórficas se encontraban en desequilibrio de ligamiento (DL), mediante el programa Haploview 4.2 entre los polimorfismos rs4833095, rs5743596 y rs4833093 para el gen *TLR1*, rs3804099, rs7656411 y rs5743709 para el gen *TLR2*, y rs5743810, rs3775073 y rs5743827 para el gen *TLR6*. La frecuencia de haplotipos se analizó con el programa THESIAS (*Testing Haplotype Effects In Association Studies*).

### Análisis gen-gen (GXG)

El análisis de interacción GXG se llevó a cabo mediante el programa Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) versión 3.0.2 y el programa Permutation Testing versión 1.0 beta, como se describe en el trabajo realizado por Sanabrais Jiménez y colaboradores (2019).

### Análisis estadístico

Para el análisis de las características clínicas, se utilizó la prueba estadística de chi-cuadrada ( $\chi^2$ ) para analizar las frecuencias de género. Las características clínicas de edad y edad de inicio del trastorno fueron evaluadas por medio de t de student entre los pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento con antipsicóticos. Se consideró una significancia con valores de  $p < 0.05$ .

Para el análisis de frecuencias de genotipos y alelos de cada uno de los SNP de cada gen se realizó una prueba estadística de chi-cuadrada ( $\chi^2$ ) en tablas de contingencia de 2x2 y 2x3 con el programa EPIDAT (Análisis Epidemiológico de Datos Tabulados) entre los grupos de pacientes con esquizofrenia y controles. Para determinar que nuestra muestra no estuvo afectada por presión de selección o mutaciones, se determinó el equilibrio de Hardy Weinberg con una  $p < .05$ .

Las características clínicas se evaluaron por medio de una prueba t de Student entre los pacientes diagnosticados con esquizofrenia contra los sujetos controles.

Se analizó la presencia de desequilibrio de ligamiento entre las variantes polimórficas de cada gen, en caso positivo se realizó el análisis por haplotipos mediante el programa Haploview 4.2.

---

## RESULTADOS

---

La muestra incluyó a 300 pacientes con diagnóstico principal de esquizofrenia, de los cuales 189 (63%) fueron hombres y 111 (37%) mujeres. Con respecto a los controles, se incluyeron 300 participantes de los cuales 124 (41%) fueron hombres y 176 (59%) mujeres. La muestra de pacientes se dividió entre pacientes que responden y no responden al tratamiento con antipsicóticos, de acuerdo con los resultados obtenidos de la escala PANSS, donde sus características clínicas se muestran en la tabla 2.

Se observó una asociación con la edad de inicio y la respuesta farmacológica, mostrando que los pacientes que responden al tratamiento presentan una edad de



inicio de esquizofrenia más tardía, en comparación con los pacientes que no responden al tratamiento.

**Tabla 2.** Características demográficas de los pacientes respondedores y no respondedores

Características	Respondedores (n=120)	No respondedores (n=80)	Estadísticos	
Mujeres, n (%)	39 (68)	26 (76)	$\chi^2= 0.0001$	p=1.000
Hombres, n (%)	81 (32)	54 (24)		
Edad (años; media±DE)	38.5±1	40.2± 1.2	t=1.060	p=0.2905
Edad de inicio (años; media±DE)	21± 8	19.5± 4.7	t=2.916	p=0.0001

DE: Desviación estándar

## Análisis genético

Análisis de frecuencias de genotipos y alelos de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* y su asociación con el desarrollo de esquizofrenia

La frecuencia de genotipos y alelos de los polimorfismos rs4833095, rs5743596 y rs4833093 del gen *TLR1* se muestran en la tabla 3. Las variantes se encuentran en equilibrio de Hardy Weinberg ( $\chi^2=1.9121$ , 1gl, p= 0.1667;  $\chi^2=0.3364$ , 1gl, p= 0.3364;  $\chi^2=0.0768$ , 1gl, p= 0.7816, respectivamente). La comparación entre pacientes y controles del polimorfismo rs4833093, muestra diferencias significativas con respecto a la frecuencia de genotipos ( $\chi^2=12.3237$ , 2gl, p= 0.0021) y alelos ( $\chi^2=5.7594$ , 1gl, p= 0.0164), observándose una mayor frecuencia del alelo G en pacientes con esquizofrenia.

**Tabla 3.** Frecuencia de genotipos y alelos de los polimorfismos del gen *TLR1* en pacientes comparados contra sujetos control.

rs4833095	Genotipos			$\chi^2$	p	Alelos		$\chi^2$	p
	CC	CT	TT			C	T		
Pacientes n= 300	93 (0.31)	135 (0.45)	72 (0.24)	0.9261	0.9651	321 (0.53)	279 (0.47)	0.9651	0.3259
Controles n= 300	83 (0.28)	138 (0.46)	79 (0.26)			304 (0.51)	296 (0.49)		
rs5743596	GG	GA	AA			G	A		
Pacientes n= 300	250 (0.83)	45 (0.15)	5 (0.02)	3.2943	0.1926	545 (0.91)	55 (0.09)	0.0407	0.8401
Controles n= 300	248 (0.83)	51 (0.16)	1 (0.01)			547 (0.91)	53 (0.09)		
rs4833093	GG	GT	TT			G	T		
Pacientes n= 300	241 (0.80)	47 (0.16)	12 (0.04)	<b>12.3237</b>	<b>0.0021</b>	529 (0.88)	71 (0.12)	<b>5.7594</b>	<b>0.0164*</b>
Controles n= 300	209 (0.70)	82 (0.27)	9 (0.03)			500 (0.83)	100 (0.17)		

\*OR=1.5, 95%IC (1.074- 2.068)

Posteriormente se realizó la genotipificación de los polimorfismos rs3804099, rs7656411 y rs5743709 del gen *TLR2*. En la tabla 4 se muestran las frecuencias de genotipos y alelos en pacientes y controles. Las variantes polimórficas analizadas se encuentran en equilibrio de Hardy Weinberg ( $\chi^2=1.2784$ , 1gl,  $p= 0.2581$ ;  $\chi^2=3.3994$ , 1gl,  $p=0.0652$ ;  $\chi^2=1.2592$ , 1gl,  $p= 0.2618$ , respectivamente). Al hacer la comparación entre los grupos, la variante rs5743709 mostró diferencias significativas en la frecuencia de genotipos ( $\chi^2=23.8602$ , 2gl,  $p= 0.0001$ ) y alelos ( $\chi^2=6.9825$ , 1gl,  $p= 0.0082$ ), mientras que la variante rs3804099 y rs7656411 no mostró diferencias entre los grupos de comparación.

**Tabla 4.** Frecuencia de genotipos y alelos de los polimorfismos del gen *TLR2* en pacientes comparados contra sujetos control.

rs3804099	Genotipos			$\chi^2$	p	Alelos		$\chi^2$	p
	TT	TC	CC			T	C		
Pacientes n= 300	142 (0.47)	119 (0.40)	39 (0.13)	0.1876	0.9105	403 (0.67)	197 (0.33)	0.0038	0.9510
Controles n= 300	139 (0.46)	124 (0.41)	37 (0.12)			402 (0.67)	198 (0.33)		
<b>rs5743709</b>	<b>GG</b>	<b>GA</b>	<b>AA</b>			<b>G</b>	<b>A</b>		
Pacientes n= 300	144 (0.48)	149 (0.50)	7 (0.02)	<b>23.860</b>	<b>0.0001</b>	437 (0.73)	163 (0.27)	<b>6.9825</b>	<b>0.0082*</b>
Controles n= 300	192 (0.64)	92 (0.31)	16 (0.05)			476 (0.79)	124 (0.21)		
<b>rs7656411</b>	<b>TT</b>	<b>TG</b>	<b>GG</b>			<b>T</b>	<b>G</b>		
Pacientes n= 300	182 (0.61)	133 (0.34)	15 (0.05)	1.4349	0.4880	467 (0.78)	133 (0.22)	0.2009	0.6540
Controles n= 300	188 (0.63)	92 (0.31)	20 (0.07)			468 (0.78)	132 (0.22)		

\*OR=1.45, 95%IC (1.09- 1.88)

El siguiente paso fue realizar la genotipificación de los polimorfismos rs5743810, rs3775073 y rs5743827 del gen *TLR6*. En la tabla 5 se muestran las frecuencias de genotipos y alelos de pacientes y controles. Las variantes polimórficas analizadas se encuentran en equilibrio de Hardy Weinberg ( $\chi^2=0.6759$ , 1gl,  $p= 0.1175$ ;  $\chi^2=0.0023$ , 1gl,  $p=0.9612$ ;  $\chi^2=0.4340$ , 1gl,  $p= 0.5100$ , respectivamente). Al hacer la comparación entre los grupos, la variante rs3775073 mostró diferencias significativas en la frecuencia de genotipos ( $\chi^2=12.6276$ , 2gl,  $p= 0.0018$ ) y alelos ( $\chi^2=10.1417$ , 1gl,  $p= 0.0014$ ), mientras que la variante rs5743810 y rs5743827 no mostró diferencias entre los grupos de comparación.

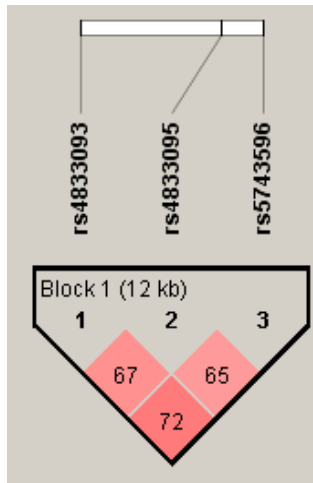
**Tabla 5.** Frecuencia de genotipos y alelos de los polimorfismos del gen *TLR6* en pacientes comparados contra sujetos control.

rs5743810	Genotipos			$\chi^2$	p	Alelos		$\chi^2$	p
	GG	GA	AA			G	A		
Pacientes n= 300	230 (0.77)	67 (0.22)	3 (0.01)	4.4669	0.1072	527 (0.88)	73 (0.12)	0.2009	0.6540
Controles n= 300	240 (0.80)	52 (0.17)	8 (0.03)			532 (0.89)	68 (0.11)		
rs3775073	TT	TC	CC			T	C		
Pacientes n= 300	104 (0.35)	125 (0.42)	71 (0.24)	12.6276	0.0018	333 (0.55)	267 (0.45)	10.1417	0.0014*
Controles n= 300	125 (0.42)	137 (0.46)	38 (0.13)			387 (0.64)	213 (0.36)		
rs5743827	CC	CT	TT			C	T		
Pacientes n= 300	251 (0.84)	43 (0.14)	6 (0.02)	2.7287	0.2555	545 (0.91)	55 (0.09)	1.5335	0.2156
Controles n= 300	237 (0.79)	58 (0.19)	5 (0.02)			532 (0.89)	68 (0.11)		

\*OR=1.47, 95%IC (1.30- 2.30)

Análisis por haplotipos de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* y su asociación con el desarrollo de esquizofrenia

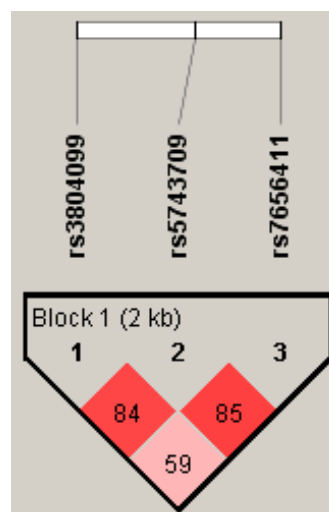
En la figura 4, se muestra el desequilibrio de ligamiento (LD) entre los polimorfismos rs4833095, rs5743596 y rs4833093 del gen *TLR1* en pacientes y controles. El análisis indica que las variantes polimórficas no se encuentran en LD ( $D' = 0.723$ ,  $r^2 = 0.311$ ), lo cual nos indica que estas variantes están sujetas a procesos de recombinación.



**Figura 4.** Estructura de los bloques de LD del gen *TLR1*. El número dentro del diamante hace referencia al parámetro  $D'$  entre cada una de las regiones, la cual tiene que tener un valor  $>80$  para considerar un LD. La dirección de la transcripción del gen es de izquierda a derecha

## Análisis de haplotipos del gen *TLR2* y su asociación con el desarrollo de esquizofrenia

En la figura 5, se muestra el LD entre los polimorfismos rs3804099, rs5743709 y rs7656411 del gen *TLR2* en pacientes y controles, el cual nos muestra que las variantes polimórficas rs3804099 y rs5743709 se encuentran en LD ( $D'=0.843$ ,  $r^2=0.11$ ), al igual que las variantes rs5743709 y rs7656411 ( $D'=0.856$ ,  $r^2=0.06$ )



**Figura 5.** Estructura de los bloques de LD del gen *TLR2*. El número dentro de los diamantes hace referencia al parámetro  $D'$  entre cada una de las regiones. La dirección de la transcripción del gen es de izquierda a derecha

El bloque compuesto por la variante rs3804099 y rs5743709, presentó cuatro haplotipos; sin embargo, ninguno mostró asociación con el desarrollo de esquizofrenia (Tabla 6). Por otra parte, el bloque compuesto por la variante rs5743709 y rs7656411 presentó cuatro combinaciones de haplotipos, de las cuales, la combinación AT mostró una mayor frecuencia en pacientes en comparación con los sujetos control (Tabla 7).

**Tabla 6.** Análisis de haplotipos entre las variantes del gen *TLR2* de pacientes con esquizofrenia comparado con sujetos control.

Haplotipos		Frecuencias		OR (95%CI)	Valor de p
rs3804099	rs5743709	Pacientes	Controles		
T	G	0.0138	0.4658	Referencia	
T	A	0.2481	0.2041	0.72 (0.5-1.0)	0.0562
C	G	0.3047	0.3275	0.99 (0.7-1.3)	0.9773
C	A	0.0235	0.0024	0.23 (0.0-2.7)	0.7930

**Tabla 7.** Análisis de haplotipos entre las variantes del gen *TLR2* de pacientes con esquizofrenia comparado con sujetos control.

Haplotipos		Frecuencias		OR (95%CI)	Valor de p
rs5743709	rs7656411	Pacientes	Controles		
G	T	0.5205	0.5754	Referencia	
G	G	0.2077	0.2178	0.95 (0.7-1.3)	0.7832
A	T	<b>0.2577</b>	<b>0.2045</b>	<b>1.44 (1.22-2.0)</b>	<b>0.019*</b>
A	G	0.0139	0.0021	0.33 (0.0-1.0)	0.8053

## Análisis de haplotipos del gen *TLR6* y su asociación con el desarrollo de esquizofrenia

En la figura 6, se muestra el LD entre los polimorfismos rs5743810, rs3775073 y rs5743827 del gen *TLR6* en pacientes y controles, el cual nos muestra que las variantes polimórficas rs3775073 y rs5743810 se encuentran en LD ( $D' = 0.817$ ,  $r^2 = 0.11$ ).

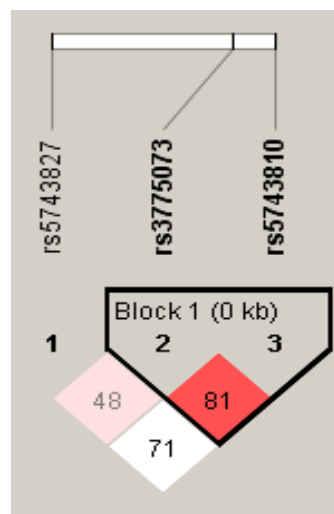


Figura 6. Estructura de los bloques de LD del gen *TLR6*. El número dentro de los diamantes hace referencia al parámetro  $D'$  entre cada una de las regiones. La dirección de la transcripción del gen es de izquierda a derecha

En la tabla 8 se observan las combinaciones de haplotipos compuestos por las variantes rs3775073 y rs5743810 del gen *TLR6*. No se observaron diferencias significativas entre las frecuencias de haplotipos entre pacientes contra controles (Tabla 8).

**Tabla 8.** Análisis de haplotipos entre las variantes del gen *TLR6* de pacientes con esquizofrenia comparado con sujetos control.

Haplotipos		Frecuencias		OR (95%CI)	Valor de p
rs5743810	rs3775073	Pacientes	Controles		
<b>G</b>	<b>T</b>	0.4785	0.5351	Referencia	
<b>G</b>	<b>C</b>	0.3998	0.3515	0.82 (0.64-1.06)	0.1377
<b>A</b>	<b>T</b>	0.0764	0.1098	1.24 (0.78-1.97)	0.3443
<b>A</b>	<b>C</b>	0.0451	0.0034	0.15(0.009-26.56)	0.4771

Análisis de interacción GxG y la asociación con el desarrollo de esquizofrenia

Posteriormente se llevó a cabo el análisis de interacción GxG entre *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* y su asociación con el desarrollo de esquizofrenia. En la tabla 9 se observan los modelos de interacción proporcionados por el programa MDR, el cual muestra una interacción genética entre la variante rs4833093 del gen *TLR1* y la variante rs5743709 del gen *TLR2*. Dicha interacción confiere 2.72 veces más riesgo a desarrollar esquizofrenia [OR=2.72, 95% IC (1.91- 3.87)].

En la tabla 10 se muestran las combinaciones de genotipos de las variantes de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* y la predicción del riesgo a desarrollar esquizofrenia.



**Tabla 9.** Modelos de interacción GxG entre los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* en pacientes con esquizofrenia

Modelo	EP	CVC	OR (95%IC)	p
<i>TLR1</i> (3), <i>TLR2</i> (3)	0.6017	10/10	2.72 (1.91- 3.87)	0.0001
<i>TLR1</i> (1), <i>TLR6</i> (2,3)	0.5867	8/10	2.94 (2.11- 4.09)	ns*
<i>TLR1</i> (1), <i>TLR2</i> (1), <i>TLR6</i> (2,3)	0.5467	8/10	3.64 (2.59- 5.13)	ns
<i>TLR1</i> (1), <i>TLR2</i> (1,2), <i>TLR6</i> (2,3)	0.545	4/10	5.03 (3.55- 7.11)	ns
<i>TLR1</i> (1,3), <i>TLR2</i> (1,3), <i>TLR6</i> (2,3)	0.5283	6/10	7.09 (4.94- 10.15)	ns
<i>TLR1</i> (1,3), <i>TLR2</i> (1,2,3), <i>TLR6</i> (1,2)	0.5017	6/10	13.07 (8.56- 19.97)	ns
<i>TLR1</i> (1,3), <i>TLR2</i> (1,2,3), <i>TLR6</i> (1,2,3)	0.5133	7/10	17.68 (11.55- 27. 06)	ns
<i>TLR1</i> (1,2,3), <i>TLR2</i> (1,2,3), <i>TLR6</i> (1,2,3)	0.5283	10/10	24.42 (15.70- 37.98)	ns

EP= Exactitud de la prueba; CVC= Consistencia de la validación cruzada; 1000 permutaciones. Modelo de interacción en esquizofrenia. *TLR1*: rs4833095 (1); rs5743596 (2); rs4833093 (3). *TLR2*: rs3804099 (1); rs7656411 (2); rs5743709 (3). *TLR6*: rs5743810 (1); rs3775073 (2); rs5743827 (3). ns= no significativo

**Tabla 10.** Combinaciones de las variantes de los genes *TLR1* y *TLR2* en el desarrollo de esquizofrenia.

Combinaciones		Pacientes	Controles	Predicción
rs4833093	rs5743709			
TT	GA	5	2	2.5
GG	GA	124	61	2.0328

Análisis genético de pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento

De la muestra total de pacientes (n=300) se obtuvo la información de la escala PANSS de solo 200 pacientes, los cuales se incluyeron para el análisis genético de la respuesta farmacológica. De acuerdo con la escala, la muestra se dividió en pacientes respondedores al tratamiento (n=120) y no respondedores al tratamiento (n=80).

Al realizar el análisis de genotipos y alelos entre pacientes respondedores contra no respondedores de las variantes rs4833095, rs5743596 y rs4833093 del gen

*TLR1* (Tabla 11), no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de comparación.

**Tabla 11.** Frecuencia de genotipos y alelos de los polimorfismos del gen *TLR1* en pacientes que responden o no a los antipsicóticos.

rs4833095	Genotipos			$\chi^2$	p	Alelos		$\chi^2$	p
	CC	CT	TT			C	T		
Respondedores n= 120	35 (0.29)	56 (0.47)	29 (0.24)	1.1087	0.5744	126 (0.53)	114 (0.48)	0.9695	0.3248
No respondedores n= 80	29 (0.36)	34 (0.43)	17 (0.21)			92 (0.58)	68 (0.43)		
rs5743596	GG	GA	AA			T	C		
Respondedores n= 120	102 (0.85)	17 (0.14)	1 (0.01)	3.4471	0.1784	221 (0.92)	19 (0.08)	3.4754	0.0623
No respondedores n= 80	61 (0.76)	16 (0.20)	3 (0.04)			138 (0.86)	22 (0.14)		
rs4833093	GG	GT	TT			C	T		
Respondedores n= 120	96 (0.80)	19 (0.16)	5 (0.04)	1.4756	0.4782	211 (0.88)	29 (0.12)	0.4224	0.5157
No respondedores n= 80	68 (0.85)	8 (0.10)	4 (0.05)			144 (0.90)	16 (0.10)		

Posteriormente se realizó la genotipificación de los polimorfismos rs3804099, rs7656411 y rs5743709 del gen *TLR2* de pacientes respondedores y no respondedores. En la Tabla 12 se muestran las frecuencias de genotipos y alelos de pacientes que responden y que no responden al tratamiento farmacológico con antipsicóticos. Al hacer la comparación entre los grupos, la variante rs5743709 mostró diferencias significativas en la frecuencia de genotipos ( $\chi^2=15.7200$ , 2gl,  $p=0.0004$ ) y alelos ( $\chi^2=4.1954$ , 1gl,  $p=0.0405$ ), mientras que las variantes rs3804099 y rs7656411 no mostraron diferencias entre los grupos de comparación.

**Tabla 12.** Frecuencia de genotipos y alelos de los polimorfismos del gen *TLR2* en la respuesta a los antipsicóticos.

rs3804099	Genotipos			$\chi^2$	p	Alelos		$\chi^2$	p
	TT	TC	CC			T	C		
Respondedores n= 120	55 (0.46)	51 (0.42)	14 (0.12)	1.2366	0.5389	126 (0.53)	114 (0.48)	0.0915	0.7623
No respondedores n= 80	38 (0.48)	29 (0.36)	13 (0.16)			92 (0.58)	68 (0.43)		
<b>rs7656411</b>	<b>TT</b>	<b>TG</b>	<b>GG</b>			<b>T</b>	<b>G</b>		
Respondedores n= 120	66 (0.55)	50 (0.42)	4 (0.03)	3.8955	0.1426	221 (0.92)	19 (0.08)	0.1488	0.6996
No respondedores n= 80	50 (0.63)	24 (0.30)	6 (0.08)			138 (0.86)	22 (0.14)		
<b>rs5743709</b>	<b>GG</b>	<b>GA</b>	<b>AA</b>			<b>G</b>	<b>A</b>		
Respondedores n= 120	47 (0.39)	73 (0.61)	0 (0)	<b>15.720</b>	<b>0.0004</b>	167 (0.70)	73 (0.30)	<b>4.1954</b>	<b>0.0405</b>
No respondedores n= 80	49 (0.61)	28 (0.35)	3 (0.04)			126 (0.79)	34 (0.21)		

El siguiente paso fue realizar la genotipificación de los polimorfismos rs5743810, rs3775073 y rs5743827 del gen *TLR6*. En la Tabla 13 se muestran las frecuencias de genotipos y alelos de pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento. Al hacer la comparación entre los grupos, ninguna de las tres variantes mostró diferencias significativas.

**Tabla 13.** Frecuencia de genotipos y alelos de los polimorfismos del gen *TLR6* en pacientes respondedores y no respondedores a los antipsicóticos.

rs5743810	Genotipos			X <sup>2</sup>	p	Alelos		X <sup>2</sup>	p
	GG	GA	AA			G	A		
Respondedores n= 120	94 (0.78)	26 (0.22)	0 (0)	0.0049	0.9440	214 (0.89)	26 (0.11)	0.0043	0.9474
No respondedores n= 80	63 (0.79)	17 (0.21)	0 (0)			143 (0.89)	17 (0.11)		
<b>rs3775073</b>	<b>TT</b>	<b>TC</b>	<b>CC</b>			<b>T</b>	<b>C</b>		
Respondedores n= 120	55 (0.46)	51 (0.43)	14 (0.12)	1.2366	0.5389	161 (0.67)	79 (0.33)	0.0915	0.7623
No respondedores n= 80	38 (0.48)	29 (0.36)	13 (0.16)			105 (0.66)	55 (0.34)		
<b>rs5743827</b>	<b>CC</b>	<b>CT</b>	<b>TT</b>			<b>C</b>	<b>T</b>		
Respondedores n= 120	101 (0.84)	17 (0.14)	2 (0.02)	0.3503	0.8393	219 (0.91)	21 (0.09)	0.3886	0.5331
No respondedores n= 80	65 (0.81)	13 (0.16)	2 (0.03)			143 (0.89)	17 (0.11)		

Análisis de haplotipos de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* y su asociación con la respuesta farmacológica al tratamiento con antipsicóticos.

En la figura 7, se muestra el LD entre los polimorfismos rs4833095, rs5743596 y rs4833093 del gen *TLR1* en pacientes que responden y no responden al tratamiento farmacológico. El análisis indica que las variantes polimórficas rs4833095 y rs5743596 se encuentran en LD ( $D' = 0.916$ ,  $r^2 = 0.08$ ), lo cual indica que estas variantes se transmiten de manera conjunta en la población.

En la tabla 14 se muestran las cuatro combinaciones de haplotipos conformados por la variante rs4833095 y rs5743596, sin embargo, ninguna combinación mostró una asociación con ser respondedor o no al tratamiento farmacológico con antipsicóticos.

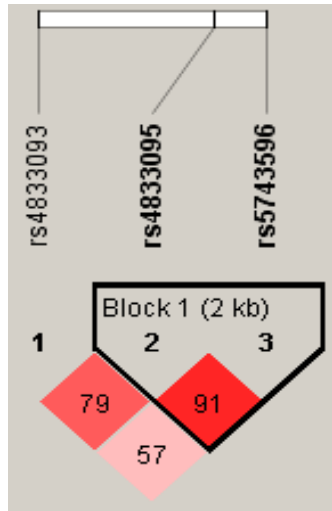


Figura 7. Estructura de los bloques de LD del gen *TLR1*. El número dentro de los diamantes hace referencia al parámetro  $D'$  entre cada una de las regiones. La dirección de la transcripción del gen es de izquierda a derecha.

**Tabla 14.** Análisis de haplotipos del gen *TLR1* en pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento con antipsicóticos.

Haplotipos		Frecuencias		OR (95%CI)	Valor de p
rs4833095	rs5743596	Respondedores	No respondedores		
T	G	0.4738	0.4169	Referencia	
C	G	0.4470	0.4455	1.09 (0.7-1.6)	0.6548
C	A	0.0780	0.1294	1.74 (0.8-3.5)	0.9998
T	A	0.0011	0.0080	1.19 (0.0-100)	0.9999

En la Figura 8, se muestra el LD entre los polimorfismos rs3804099, rs5743709 y rs7656411 del gen *TLR2* en pacientes que responden y no responden al tratamiento farmacológico. El análisis indica que las variantes polimórficas no se encuentran en LD ( $D' = 0.623$ ,  $r^2 = 0.237$ ;  $D' = 0.732$ ,  $r^2 = 0.099$ ;  $D' = 0.774$ ,  $r^2 = 0.067$ ), lo cual indica que estas variantes están sujetas a procesos de recombinación.

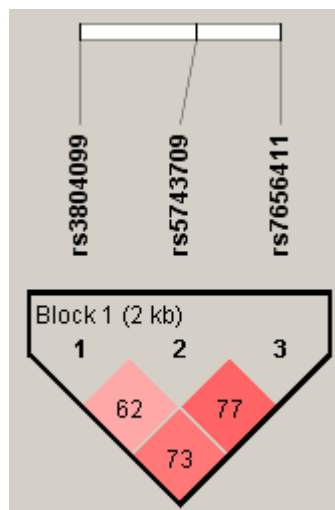


Figura 8. Estructura de los bloques de LD del gen *TLR2*. El número dentro de los diamantes hace referencia al parámetro  $D'$  entre cada una de las regiones. La dirección de la transcripción del gen es de izquierda a derecha.

Con respecto a la figura 9, se muestra el LD entre los polimorfismos rs5743827, rs3775073 y rs5743810 del gen *TLR6* en pacientes que responden y no responden al tratamiento farmacológico. El análisis indica que las variantes polimórficas no se encuentran en LD ( $D' = 0.065$ ,  $r^2 = 0.001$ ;  $D' = 0.039$ ,  $r^2 = 0.5$ ;  $D' = 0.495$ ,  $r^2 = 0.98$ ), lo cual indica que estas variantes están sujetas a procesos de recombinación.

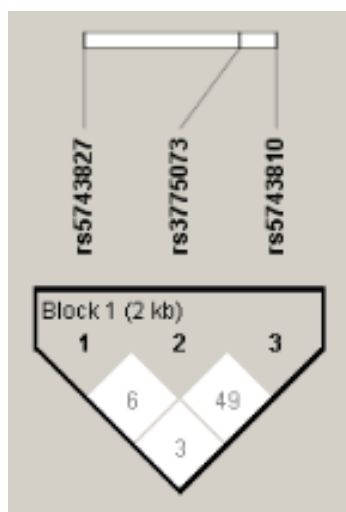


Figura 9. Estructura de los bloques de LD del gen *TLR6*. El número dentro de los diamantes hace referencia al parámetro  $D'$  entre cada una de las regiones. La dirección de la transcripción del gen es de izquierda a derecha.

Análisis de interacción GxG y su asociación con la respuesta farmacológica en pacientes con esquizofrenia.

En la tabla 15, se muestra el análisis de interacción GxG entre todos los polimorfismos analizados de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6*, el cual no mostró asociación con ser respondedor o no al tratamiento farmacológico con antipsicóticos.

**Tabla 15.** Modelos de interacción GxG entre los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* en pacientes con esquizofrenia que responden o no al tratamiento farmacológico.

Modelo	EP	CVC	OR (95%IC)	p
<i>TLR1</i> (3), <i>TLR2</i> (3)	0.5042	5/10	3.54 (1.82- 6.90)	ns
<i>TLR1</i> (1), <i>TLR6</i> (2,3)	0.525	4/10	4.36 (2.35- 8.09)	ns
<i>TLR1</i> (1), <i>TLR2</i> (1), <i>TLR6</i> (2,3)	0.5417	4/10	6.90 (3.67- 12.97)	ns
<i>TLR1</i> (1), <i>TLR2</i> (1,2), <i>TLR6</i> (2,3)	0.4833	3/10	11.05 (5.65- 21.60)	ns
<i>TLR1</i> (1,3), <i>TLR2</i> (1,3), <i>TLR6</i> (2,3)	0.4979	5/10	28.67 (11.9- 68.7)	ns
<i>TLR1</i> (1,3), <i>TLR2</i> (1,2,3), <i>TLR6</i> (1,2)	0.5	6/10	54.93 (21.2- 142.3)	ns
<i>TLR1</i> (1,3), <i>TLR2</i> (1,2,3), <i>TLR6</i> (1,2,3)	0.5042	4/10	95.0 (31.1- 289.4)	ns
<i>TLR1</i> (1,2,3), <i>TLR2</i> (1,2,3), <i>TLR6</i> (1,2,3)	0.5271	10/10	133.0 (42.4- 416.5)	ns

EP= Exactitud de la prueba; CVC= Consistencia de la validación cruzada; 1000 permutaciones. Modelo de interacción en esquizofrenia. *TLR1*: rs4833095 (1); rs5743596 (2); rs4833093 (3). *TLR2*: rs3804099 (1); rs7656411 (2); rs5743709 (3). *TLR6*: rs5743810 (1); rs3775073 (2); rs5743827 (3). \*ns= no significativo

---

## DISCUSIÓN

---

La esquizofrenia es un trastorno complejo en el cual interactúan distintos factores como los ambientales y los biológicos, entre los que podemos encontrar a los genéticos. Con base en la evidencia biológica sobre la existencia de alteraciones en diversas moléculas involucradas en la respuesta inmune en pacientes con esquizofrenia es importante analizar la asociación entre posibles genes candidatos y la esquizofrenia. Hasta la fecha, se han realizado diversos estudios que analizan múltiples genes ajenos a la vía inmunológica y su implicación con el desarrollo de esquizofrenia; sin embargo, los resultados no son concluyentes. Es importante mencionar que ya que el efecto que podría ejercer un solo gen es pequeño, los estudios de asociación deben incluir múltiples genes, y de esta manera aportar más información sobre el desarrollo de la esquizofrenia.

Con respecto al estudio farmacogenético de la respuesta a antipsicóticos, existe muy poca reproducibilidad de los hallazgos reportados, lo cual puede ser producto de las diferentes definiciones de respuesta entre los estudios. Los análisis genéticos requieren tener fenotipos que permitan tener grupos homogéneos y bien caracterizados. Este tipo de estudios son necesarios para relacionar a un gen con el fenotipo de interés, ya que en la respuesta farmacológica están involucrados distintos factores genéticos (Gardner *et al.* 2014). De acuerdo con lo reportado en la literatura, este es el primer estudio de asociación genética que involucra a los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* con la etiología de la esquizofrenia y con la respuesta farmacológica a los antipsicóticos.



Con respecto a nuestro análisis de asociación genética, el gen *TLR1* mostró estar asociado con el desarrollo de esquizofrenia, ya que nuestros datos indican una mayor frecuencia del genotipo GT del polimorfismo rs4833093 en pacientes en comparación con los controles. Los datos obtenidos indican que los sujetos que presentan el alelo G de este polimorfismo tienen 1.5 veces más riesgo a desarrollar esquizofrenia. Hasta la fecha no se han realizado otros estudios de asociación que involucren a la variante rs4833093 del gen *TLR1* con la esquizofrenia. De forma similar, el gen *TLR2* mostró una asociación con el desarrollo de esquizofrenia, ya que se observó una mayor frecuencia del genotipo GA del polimorfismo rs5743709 en los pacientes en comparación con los controles. Así, en los sujetos que presentan una mayor frecuencia del alelo A de la variante rs5743709 aumenta 1.4 veces más el riesgo a desarrollar esquizofrenia.

Los resultados mencionados anteriormente nos muestran el papel que desempeña cada polimorfismo individualmente, por lo cual, fue necesario realizar análisis adicionales para observar cómo los polimorfismos de cada gen se comportan de manera conjunta. Para ello se realizó un análisis de haplotipos para conocer, en primera instancia, si los SNPs se segregan de manera conjunta de generación en generación mediante la obtención del LD. Si nuestro resultado es positivo, podemos proseguir con la obtención de frecuencias de los haplotipos como se muestra a continuación. El haplotipo AT conformado por las variantes rs5743709 y rs7656411 del gen *TLR2* mostró una mayor frecuencia en pacientes, lo que aumenta 1.44 veces más el riesgo a desarrollar esquizofrenia. Por su parte, el gen *TLR6* mostró también estar asociado con el desarrollo de esquizofrenia, con una mayor frecuencia del genotipo CC en pacientes en comparación con los controles, al igual

que una mayor frecuencia del alelo C en pacientes, lo que aumenta 1.47 veces más el riesgo a desarrollar esquizofrenia.

Los hallazgos obtenidos en el presente estudio sugieren que estas variantes polimórficas podrían alterar los niveles de expresión de los receptores estudiados. Mediante la base de datos de la Universidad de California Santa Cruz (UCSC Genome Browser, 2002) se visualizó la ubicación intragénica de los polimorfismos analizados y se encontró que la variante rs4833093 está ubicada en una región de *enhancer* del gen *TLR1*, lo cual podría estar asociado con alteraciones en la expresión. Por otra parte, las variantes rs5743709 del gen *TLR2* y rs3775073 del gen *TLR6* son variantes que codifican para el mismo aminoácido; sin embargo, los codones son diferentes. Un estudio realizado por Presnyak y colaboradores (2015) propone que la estabilidad del RNA mensajero se ve favorecida al tener una mayor cantidad de codones óptimos que no óptimos. Con base en el estudio de Presnyak, el cambio de codón producido por los polimorfismos rs5743709 y rs3775073 genera codones no óptimos, lo que podría hacer que el RNA mensajero sea más inestable y provoque así alteraciones en la expresión génica. Esto podría ser una explicación para los hallazgos reportados por Kozłowska y colaboradores (2019), el cual mostró una disminución en la expresión de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* en pacientes con esquizofrenia, en comparación con sujetos control. Por lo tanto, se sugiere que SNPs ubicados en estos genes podrían estar alterando la expresión génica de los receptores de interés.

Respecto al estudio de interacción GxG, se observó un efecto epistático entre los genes *TLR1* y *TLR2* lo cual concuerda con lo reportado sobre los receptores TLR1 y TLR2, ya que tienden a formar heterodímeros para la interacción específica de

diversos ligandos (Chen *et al.* 2019). Posiblemente, la presencia de SNPs en los genes que codifican a estos receptores, modifiquen la afinidad que se tiene por DAMPs producidos en pacientes con esquizofrenia o por moléculas adaptadoras encargadas de mediar la transducción de señales para la activación de la respuesta inmune innata. Del mismo modo, se puede ver alterada la formación de heterodímeros entre los receptores TLR1 y TLR2 de tal manera que se modifique la cantidad necesaria para la identificación de DAMPs específicos en pacientes con esquizofrenia. Por otra parte, las variantes asociadas en el presente estudio podrían formar haplotipos con otras variantes raras no analizadas, las cuales podrían ser causales o conferir un riesgo mayor al desarrollo de esquizofrenia. Para determinar esto es necesario continuar con la investigación en este tema.

De acuerdo con los resultados obtenidos sobre la respuesta al tratamiento con antipsicóticos, ninguna de las tres variantes del gen *TLR1* ni del gen *TLR6* mostraron una asociación con la respuesta al tratamiento con antipsicóticos. Sin embargo, la variante rs5743709 del gen *TLR2* mostró una mayor frecuencia del genotipo GA en pacientes respondedores en comparación con los no respondedores. La respuesta al tratamiento es un fenotipo complejo que requiere una evaluación precisa. La identificación de características clínicas que reducen la heterogeneidad podría incrementar la posibilidad de identificar las variantes genéticas involucradas en la respuesta al tratamiento (Squassina *et al.* 2010).

El presente estudio proporciona evidencia sobre una asociación entre genes que no habían sido analizados hasta la fecha y que participan en la respuesta inmune innata, apoyando la hipótesis inmunológica en la etiología de la esquizofrenia y en la respuesta farmacológica; sin embargo, es importante analizar otras variantes de

estos y otros genes y observar si existe un efecto epistático entre ellos, para poder llegar a elucidar el papel que desempeña la respuesta inmune innata en el desarrollo de la esquizofrenia y la respuesta farmacológica.

---

## CONCLUSIÓN

---

La esquizofrenia es considerada un trastorno multifactorial y tiene una alta comorbilidad con otros trastornos psiquiátricos, lo cual dificulta la tarea de elucidar la etiología de este trastorno. Los factores genéticos tienen un impacto importante en el desarrollo de la esquizofrenia, sin embargo, hay que considerar otros factores como los ambientales que podrían influir en el desarrollo y en la respuesta farmacológica en este padecimiento.

Hasta el momento, no se conoce con precisión los genes que se encuentran implicados en el desarrollo de la esquizofrenia, sin embargo, los resultados del presente estudio sugieren fuertemente que los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* juegan un papel importante en la etiología de la esquizofrenia, ya que se identificaron variantes asociadas con la enfermedad. Sin embargo, es necesario aumentar el tamaño de muestra y analizar otros genes relacionados con la vía de señalización de los TLRs para llegar a una conclusión más acertada sobre el papel de la respuesta inmune innata en la etiología y respuesta al tratamiento en la esquizofrenia.

En conclusión:

- Existe una asociación entre variantes polimórficas de los genes *TLR1*, *TLR2* y *TLR6* con la esquizofrenia.
- El haplotipo AT conformado por las variantes rs5743709 y rs7656411 del gen *TLR2* mostró una mayor frecuencia en pacientes en comparación con controles aumentando el riesgo a desarrollar esquizofrenia.
- Existe una interacción GxG entre *TLR1* y *TLR2*, lo cual incrementa 2.72 veces más el riesgo a desarrollar esquizofrenia.
- El gen *TLR2* se encuentra asociado con la respuesta al tratamiento con antipsicóticos.
- No se encontró asociación genética entre el gen *TLR1* y *TLR6* con la respuesta al tratamiento con antipsicóticos.

## Referencias

Aleman, A., Kahn, R. S. & Selten, J.-P. Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. *Arch. Gen. Psychiatry* **60**, 565–571 (2003).

Al-Haddad BJS, Jacobsson B, Chabra S, Modzelewska D, Olson EM, Bernier R, Enquobahrie DA, Hagberg H, Ostling S, Rajagopal L, Adams Waldorf KM, Sengpiel V. (2019). Long-term Risk of Neuropsychiatric Disease After Exposure to Infection In Utero. *JAMA Psychiatry*; 76:594.

Altamura, A. C., Pozzoli, S., Fiorentini, A. & Dell'osso, B. (2013). Neurodevelopment and inflammatory patterns in schizophrenia in relation to pathophysiology. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 42, 63–70.

Avgustin B, Wraber B, Tavcar R (2005) Increased Th1 and Th2 immune reactivity with relative Th2 dominance in patients with acute exacerbation of schizophrenia. *Croat Med J* 46: 268–274.

Barak B, Feldman N, Okun E. (2014). Toll-like receptors as developmental tools that regulate neurogenesis during development: an update. *Front Neurosci.* 8:272

Barrat FJ, Meeker T, Gregorio J, Chan JH, Uematsu S, Akira S, Chang B, Duramad O, Coffman RL. (2005). Nucleic acids of mammalian origin can act as endogenous ligands for toll-like receptors and may promote systemic lupus erythematosus. *J Exp Med* ;202(8):1131–9.

Barrera P, Alvaro. (2006). Los trastornos cognitivos de la esquizofrenia. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 44(3): 215-221. doi.org/10.4067/S0717-92272006000300007

Beijar ECE, Mallard C, Powell TL. (2006). Expression and subcellular localization of TLR-4 in term and first trimester human placenta. *Placenta*; 27:322–6.

Bell JK, Mullen GE, Leifer CA, Mazzoni A, Davies DR, Segal DM. (2003). Leucine-rich repeats and pathogen recognition in toll-like receptors. *Trends Immunol.* 24(10):528–33.

Bergen S., Petryshen T. (2012). Genome-wide association Studies (GWAS) of schizophrenia: does bigger lead to better results? *Curr Opin Psychiatry*: 25 (2): 76-82. doi:10.1097/YCO.0b013e32835035dd.

Blonigen D, Hicks B, Krueger R, Patrick C, Iacono W. 2005. Psychopathic personality traits: heritability and genetic overlap with internalizing and externalizing psychopathology. *Psychol Med*. 35:637-648.

Brown AS, Begg MD, Gravenstein S, Schaefer CA, Wyatt RJ, Bresnahan M, et al. (2004) Serologic evidence of prenatal influenza in the etiology of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 61: 774–780

Brubaker SW, Bonham KS, Zanoni I, Kagan JC. (2015). Innate immune pattern recognition: a cell biological perspective. *Annu Rev Immunol* ;33: 257–90.

Burmeister M, McInnis M, Zöllner S. 2008. Psychiatric genetics: progress amid controversy. *Nat Rev Genet*. 9:527-541.

Cannon, M., Jones, P. B. & Murray, R. M. (2002). Obstetric complications and schizophrenia: historical and meta-analytic review. *Am. J. Psychiatry* **159**, 1080–1092.

Carter CS. (2006). Re-conceptualizing schizophrenia as a disorder of cognitive and emotional processing: a shot in the arm for translational research. *Biol Psychiatry*; 60(11):1169–1170.

Castle, D., Sham, P. & Murray, R. Differences in distribution of ages of onset in males and females with schizophrenia. *Schizophr. Res.* **33**, 179–183 (1998).

Chen C., Shih Y., Hung Y., Hsueh Y. (2019). Beyond defense: regulation of neuronal morphogenesis and brain functions via Toll-like receptors. *Journal of Biomedical Science*. 26: 90

Chiveri L, Sciacco M, Prella A. (2003). Schizophreniform disorder with cerebrospinal fluid PCR positivity for herpes simplex virus type 1. *Eur Neurol*. 50:182–183.

Corvin, A., Morris, D.W., 2013. Genome-wide association studies: findings at the major histocompatibility complex locus in psychosis. *Biol. Psychiatry* 75 (4), 276–283

Czirr E, Wyss-Coray T. (2012). The immunology of neurodegeneration. *J Clin Invest*;122(4):1156–63.

Dalman C, Allebeck P, Cullberg J, Grunewald C, Koster M. (1999). Obstetric complications and the risk of schizophrenia: a longitudinal study of a national birth cohort. *Arch Gen Psychiatry*. 56:234–40.

Dalman C, Allebeck P, Gunnell D et al. Infections in the CNS during childhood and the risk of subsequent psychotic illness: a cohort study of more than one million Swedish subjects. *Am J Psychiatry*. 2008; 165:59-65.

Dargiene G., Streleckiene G., Skieceviciene J., Leja M., Link A., Wex T., Kupcinskas L., Malfertheiner P., Kupcinskas J. (2018). TLR1 and PRKAA1 gene polymorphisms in the development of atrophic gastritis and gastric cancer. *J Gastrointest Liver Dis*. 27(4):363-369. Doi: 10.15403/jgld.2014.1121.274.tlr.

Eaton W., Chen C. (2006). Cap. *Epidemiology*. eds. The American Psychiatric Publishing. Washington DC. 7–38.

Eranti, S. V., MacCabe, J. H., Bundy, H. & Murray, R. M. Gender difference in age at onset of schizophrenia: a meta-analysis. *Psychol. Med.* **43**, 155–167 (2013).

Escamilla R. (2019). Estudio farmacogenético de los diferentes fenotipos de respuesta a los antipsicóticos en pacientes con esquizofrenia (Tesis doctoral). Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de Mexico.

Fatemi H., Clayton J. (2008). Cap. *Schizophrenia. The medical basis of psychiatry*. eds. Humana Press. Totowa, NJ.

Felgenhauer K. (1990). Psychiatric disorders in the encephalitic form of multiple sclerosis. *J Neurol*. 237:11–18.

Fong TCT, Ho RTH, Wan AHY, Siu PJCY, Au-Yeung FSW. (2015). Psychometric validation of the consensus five-factor model of the Positive and Negative Syndrome Scale. *Compr Psychiatry*; 62:204–8.

Fresan A, De La Fuente-Sandoval C, Loyzaga C, Garcia-Anaya M, Meyenberg N, Nicolini H. (2005). A forced five-dimensional factor analysis and concurrent validity



of the Positive and Negative Syndrome Scale in Mexican schizophrenic patients. *Schizophr Res.* 72(2–3):123–9.

García-Bueno B., Caso J., Madrigal J., Leza J. (2016b) Innate immune receptor Toll-like receptor 4 signalling in neuropsychiatric diseases. *Neurosci Biobehav Rev.* 64:134-47. Doi:10.1016/j.neubiorev.2016.02.013.

García-Bueno B., Gassó P., MacDowell K., Callado L., Mas S., Bernardo M., Lafuente A., Meana J., Leza J. (2016a). Evidence of activation of the Toll-like receptor-4 proinflammatory pathway in patients with schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci* 31 (3): 46-55.

Gaskin PL, Toledo-Rodriguez M, Alexander SP, Fone KC. (2016). Down-Regulation of Hippocampal Genes Regulating Dopaminergic, GABAergic, and Glutamatergic Function Following Combined Neonatal Phencyclidine and Post-Weaning Social Isolation of Rats as a Neurodevelopmental Model for Schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.* 3;19(11). doi: 10.1093/ijnp/pyw062.

Goldsmith DR., Rapaport MH., Miller BJ (2016). A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparison between schizophrenia, bipolar disorder and depression. *Mol Psychiatry* 21:1696-709.

Gumusoglu SB, Stevens HE. (2019). Maternal inflammation and neurodevelopmental programming: a review of preclinical outcomes and implications for translational psychiatry. *Biol Psychiatry.*;85(2):107–21.

Hanke ML, Kielian T. (2011) Toll-like receptors in health and disease in the brain: mechanisms and therapeutic potential. *Clin Sci (Lond).* 121(9):367–87

Hiroshi H, Seiji K, Toshihiro K, Nobuo K. (2003). [An adult case suspected of recurrent measles encephalitis with psychiatric symptoms]. *Seishin Shinkeigaku Zasshi.* 105:1239–1246.

Howes, O. D. & Murray, R. M. (2014). Schizophrenia: an integrated sociodevelopmental-cognitive model. *Lancet* 383, 1677–1687.

Kawai, T., & Akira, S. (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nature Immunology*, 11(5), 373–384. doi:10.1038/ni.1863

Kéri Szabó C., Kelemen O. (2017). Antipsychotics influence Toll-like receptor (TLR) expression and its relationship with cognitive functions in schizophrenia. *Brain Behav Immun*. 62: 256-264.

Koblansky AA, Jankovic D, Oh H, Hieny S, Sungnak W, Mathur R, Hayden MS, Akira S, Sher A, Ghosh S. (2013). Recognition of profilin by toll-like receptor 12 is critical for host resistance to toxoplasma gondii. *Immunity*. 38(1):119–30.

Kozłowska E., Agier J., Wysokiński A., Lucka A., Sobierajska K., Brzezinska E. (2019). The expression of toll-like receptors in peripheral blood mononuclear cells is altered in schizophrenia. *Psychiatry Research*. 272: 540-550. doi: 10.1016/j.psychres.2018.12.138

Le-Niculescu H, Balaraman Y, Patel S, Tan J, Sidhu K, Jerome R, Edenberg H, Kuczenski R, Geyer M, Nurnberger J, Faraone S, Tsuang T, Niculescu A. (2007). Towards understanding the schizophrenia code: an expanded convergent functional genomics approach. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 144(2):129–158.

Liu HY, Chen CY, Hsueh YP. (2014). Innate immune responses regulate morphogenesis and degeneration: roles of toll-like receptors and Sarm1 inneurons. *Neurosci Bull*; 30(4):645–54

Ma Y, Li J, Chiu I, Wang Y, Sloane JA, Lu J, et al. (2006). Toll-like receptor 8 functions as a negative regulator of neurite outgrowth and inducer of neuronal apoptosis. *J Cell Biol*; 175:209–15.

Malaspina, D. *et al.* (2001). Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* **58**, 361–367.

Malaspina, D. *et al.* (2001). Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* **58**, 361–367.

Meltzer HY, Fatemi SH. Schizophrenia. In: Ebert MH, Loosen PT, Nurcombe B, eds. (2000). *Current Diagnosis and Treatment in Psychiatry*. New York: Lange Medical Books/McGraw Hill: 260–277.

Merikangas, K. R. (2018). Concepts of Genetic Epidemiology. *Translational Bioinformatics*, 17–26. doi:10.1007/978-981-13-1071-3\_3

Meyer, U., Schwarz, M. J. & Müller, N. (2011). Inflammatory processes in schizophrenia: a promising neuroimmunological target for the treatment of negative/cognitive symptoms and beyond. *Pharmacol Ther* 132, 96–110.

Müller N, Gizycki-Nienhaus B, Botschev C, Meurer M. (1993). Cerebral involvement of scleroderma presenting as schizophrenia-like psychosis. *Schizophr Res*. 10:179–181.

Müller N, Gizycki-Nienhaus B, Gunther W, Meurer M. (1992). Depression as a cerebral manifestation of scleroderma: immunological findings in serum and cerebrospinal fluid. *Biol Psychiatry*. 31:1151–1156.

Müller N, Riedel M, Ackenheil M, Schwarz MJ (2000) Cellular and humoral immune system in schizophrenia: a conceptual re-evaluation. *World J Biol Psychiatry* 1: 173–179

Müller N, Riedel M, Hadjamu M, Schwarz MJ, Ackenheil M, Gruber R (1999) Increase in expression of adhesion molecule receptors on T helper cells during antipsychotic treatment and relationship to blood–brain barrier permeability in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 156: 634–636

Müller N, Riedel M, Schwarz MJ, et al. (1997) Immunomodulatory effects of neuroleptics to the cytokine system and the cellular immune system in schizophrenia. In: Wieselmann G (ed), *Current update in psychoimmunology*. Springer, Wien New York, pp 57–67

Müller N, Schwarz MJ. (2007) The immunological basis of glutamatergic disturbance in schizophrenia: towards an integrated view. *J Neurotransmission*:269–280.

Müller N. (2018). Inflammation in Schizophrenia: Pathogenetic Aspects and Therapeutic Considerations. *Schizophrenia Bulletin* vol. 44 no. 5 pp. 973-982.

Müller N., Schwarz M. (2010). Immune system and schizophrenia. *Curr Immunol Rev.* 6(3): 213-220

Murray, R. M., Paparelli, A., Morrison, P. D., Marconi, A. & Di Forti, M. (2013). What can we learn about schizophrenia from studying the human model, drug-induced psychosis? *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* **162**, 661–670.

Okun E, Griffioen KJ, Mattson MP. (2011). Toll-like receptor signaling in neural plasticity and disease. *Trends Neurosci*; 34: 269–81.

OMS (2019). Esquizofrenia. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/schizophrenia>. Acceso 2 Abr 2019.

Oommen KJ, Johnson PC, Ray CG. (1982). Herpes simplex type 2 virus encephalitis presenting as psychosis. *Am J Med.* 73:445–448.

Park SJ, Lee JY, Kim SJ, Choi SY, Yune TY, Ryu JH. Toll-like receptor-2 deficiency induces schizophrenia-like behaviors in mice. *Sci Rep.* 2015 Feb 17; 5: 8502. doi: 10.1038/srep08502. Erratum in: *Sci Rep.* 2015; 5: 14025. PMID: 25687169; PMCID: PMC4330527.

Potvin, S. et al. (2008). Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. *Biol Psychiatry* 63, 801–808.

Pouget JG; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium, Han B, Wu Y, Mignot E, Ollila HM, Barker J, Spain S, Dand N, Trembath R, Martin J, Mayes MD, Bossini-Castillo L, López-Isac E, Jin Y, Santorico SA, Spritz RA, Hakonarson H, Polychronakos C, Raychaudhuri S, Knight J. (2019). Cross-disorder analysis of schizophrenia and 19 immune-mediated diseases identifies shared genetic risk. *Hum Mol Genet.* 15;28(20):3498-3513. doi: 10.1093/hmg/ddz145.

Purcell, S.M., Wray, N.R., Stone, J.L., Visscher, P.M., O'Donovan, M.C., Sullivan, P.F., Sklar, P., 2009. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. *Nature* 460 (7256), 748–752.

Roach JC, Glusman G, Rowen L, Kaur A, Purcell MK, Smith KD, Hood LE, Aderem A. (2005). The evolution of vertebrate toll-like receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 102(27):9577–82.

Rolls, A., Shechter, R., London, A., Ziv, Y., Ronen, A., Levy, R., & Schwartz, M. (2007). Toll-like receptors modulate adult hippocampal neurogenesis. *Nature Cell Biology*, 9(9), 1081–1088. doi:10.1038/ncb1629

Salamanca D., Yamit J., Escobar F., Rodríguez A., Caminos J. (2014). Avances genéticos y moleculares en el estudio de trastornos mentales. *Rev. Fac. Med.* Vol. 62 No. 2: 319-324.

Sanabrais Jiménez M., Sotelo Ramírez C., Ordoñez Martínez B., Jiménez Pavon J., Ahumada Curiel G., Piana Diaz S., Flores Flores G., Flores Ramos M., Jiménez Anguiano A., Camarena B. (2019). Effect of CRHR1 and CRHR2 gene polymorphisms and childhood trauma in suicide attempt. *Journal of Neural Transmission*. 126:637-644.

Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2014). Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511, 421-427. doi:10.1038/nature13595

Schoeler, T. et al. (2016). Differential effects of continued versus discontinued cannabis use on outcome in patients with psychosis: a meta-analysis. *Lancet Psychiatry*. Mar; 3 (3):215-25.

Schurz H., Daya M., Möller M., Hola E., Salie M. (2015). TLR1, 2, 4, 6 and 9 Variants Associated with Tyberculosis Susceptibility: A Systemic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 10(10): e0139711. doi: 10.1371/journal.pone.0139711.

Schwarz MJ, Chiang S, Müller N, Ackenheil M (2001) T-helper-1 and T-helper-2 responses in psychiatric disorders. *Brain Behav Immun* 15: 340–370.

Schwarz MJ, Riedel M, Ackenheil M, Müller N (2000) Decreased levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) in unmedicated and medicated schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 47: 29–33

Shey M., Randhawa A., Bowmaker M., Smith E., Scriba T., de Kock M., Mohamed H., Hussey G., Hawn T., Hanekom W. (2010). Single nucleotide polymorphisms in toll-like receptor 6 are associated with altered lipopeptide- and micobacteria-induced interleukin-6 secretion. *Genes Immun* 11(7): 561-72.

Shi, J., Levinson, D.F., Duan, J., Sanders, A.R., Zheng, Y., Pe'er, I., Dudbridge, F., Holmans, P.A., Whittemore, A.S., Mowry, B.J., Olincy, A., Amin, F., Cloninger, C.R., Silverman, J.M., Buccola, N.G., Byerley, W.F., Black, D.W., Crowe, R.R., Oksenberg, J.R., Mirel, D.B., Kendler, K.S., Freedman, R., Gejman, P.V., 2009. Common variants on chromosome 6p22.1 are associated with schizophrenia. *Nature* 460 (7256), 753–757.

Sørensen HJ, Mortensen EL, Reinisch JM et al. Association between prenatal exposure to bacterial infection and risk of schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2009; 35:631-7.

Stevens V., Hsing A., Talbot J., Zheng S., Sun J., Chen J., Thun M., Xu J., Calle E., Rodriguez C. (2008). Genetic variation in the toll-like receptor gene cluster (TLR10-TLR1-TLR6) and prostate cancer risk. *Int J Cancer* 123(11): 2644-50.

Stilo, S. A. & Murray, R. M. (2010). The epidemiology of schizophrenia: replacing dogma with knowledge. *Dialogues Clin. Neurosci.* **12**, 305–315.

Sullivan PF, Owen MJ, O'Donovan MC, Freedman MD. (2006). Genetics. In: Lieberman JA, Stroup TS, Perkins DO, eds. *The American Psychiatric Publishing Textbook of Schizophrenia*. Washington DC: American Psychiatric Publishing Inc., 39–54.

Sullivan, P. F., Kendler, K. S., & Neale, M. C. (2003). Schizophrenia as a Complex Trait. *Archives of General Psychiatry*, 60(12), 1187. doi:10.1001/archpsyc.60.12.1187

Suzuki T, Remington G, Mulsant BH, Rajji TK, Uchida H, Graff-Guerrero A. (2011). Treatment resistant schizophrenia and response to antipsychotics: A review. *Schizophr Res*;133(1–3):54–62.

Tomasik J., Rahmoune H., Guest P., Bahn S. (2016). Neuroimmune biomarkers in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 176; 3-13.

UCSC Genome Browser: Kent WJ, Sugnet CW, Furey TS, Roskin KM, Pringle TH, Zahler AM, Haussler D. The human genome browser at UCSC. *Genome Res.* 2002 Jun;12(6):996-1006.

van Dam AP (1991). Diagnosis and pathogenesis of CNS lupus. *Rheumatol Int.* 11:1–11.

van Kammen DP, McAllister-Sistilli CG, Kelley ME (1997) Relationship between immune and behavioral measures in schizophrenia. In: Wieselmann G (ed), Current update in psychoimmunology. Springer, Wien New York, pp 51–55

Venkatasubramanian, G., & Debnath, M. (2013). The TRIPS (Toll-like receptors in immuno-inflammatory pathogenesis) Hypothesis: a novel postulate to understand schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 44, 301–311. doi:10.1016/j.pnpbp.2013.04.001

Vidya, M. K., Kumar, V. G., Sejian, V., Bagath, M., Krishnan, G., & Bhatta, R. (2017). Toll-like receptors: Significance, ligands, signaling pathways, and functions in mammals. *International Reviews of Immunology*, 37(1), 20–36. doi:10.1080/08830185.2017.1380200

Vuillermot S, Weber L, Feldon J et al. A longitudinal examination of the neurodevelopmental

Wang J, Zhang Z, Liu J, Zhao J, Yin D. (2016). Ectodomain architecture affects sequence and functional evolution of vertebrate toll-like receptors. *Sci Rep*; 6:26705.

Wilke I, Arolt V, Rothermundt M, Weitzsch C, Hornberg M, Kirchner H (1996) Investigations of cytokine production in whole blood cultures of paranoid and residual schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 246: 279–284

Wilke I, Arolt V, Rothermundt M, Weitzsch C, Hornberg M, Kirchner H. (1996). Investigations of cytokine production in whole blood cultures of paranoid and residual schizophrenic patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 246: 279–284

Witte I., Tomasik J., Schwarz E., Guest PC., Rahmoune H., Kahn RS. (2014). Cytokine alterations in first-episode schizophrenia patients before and after antipsychotic treatment. *Schizophr Res.* 154:23-9.

Xie, F., Hu, Y., Speert, D. P., Turvey, S. E., Peng, G., Money, D. M., Magee L., D., von Dadelszen, P. (2010). Toll-like Receptor Gene Polymorphisms and Preeclampsia Risk: A Case-Control Study and Data Synthesis. *Hypertension in Pregnancy*, 29(4), 390–398. doi:10.3109/10641950903242659

Zhang J., Zhao Z., Zhong H., Wu L., Zhou W., Peng W., Hu X., Song J., Liu T., Wu Q., Bai H., Zhou Y., Chen X., Chen J., Lu X., Ying B. (2018). Importance of common TLR2 genetic variants on clinical phenotypes risk in tuberculosis disease in Western Chinese population. *Infect Genet Evol.* 60: 173-180.

Peralta V, Cuesta MJ. (1994). Validación de la escala de síntomas positivos y negativos (PANSS) en una muestra de esquizofrénicos españoles. *Actas Luso Españolas de Neurología Psiquiátrica.* 4:44-50.





Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00216

Matrícula: 2183802013

Estudio de asociación entre los genes TLR1, TLR2 y TLR6 y la esquizofrenia en pacientes mexicanos.

Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 12:00 horas del día 25 del mes de noviembre del año 2020 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:

DRA. BEATRIZ GOMEZ GONZALEZ  
DRA. HERLINDA BONILLA JAIME  
DR. RAUL IVAN ESCAMILLA OROZCO  
DRA. MARCELA VALDES TOVAR



Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL

DE: CARLO ESTEBAN SOTELO RAMIREZ

CARLO ESTEBAN SOTELO RAMIREZ  
ALUMNO

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

## APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. SABALUCÍA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTA

DRA. BEATRIZ GOMEZ GONZALEZ

VOCAL

DRA. HERLINDA BONILLA JAIME

VOCAL

DR. RAUL IVAN ESCAMILLA OROZCO

SECRETARIA

DRA. MARCELA VALDES TOVAR

El presente documento cuenta con la firma -autógrafa, escaneada o digital, según corresponda- del funcionario universitario competente, que certifica que las firmas que aparecen en esta acta - Temporal, digital o dictamen- son auténticas y las mismas que usan los c.c. profesores mencionados en ella