

Niveles plasmáticos de triptófano en pacientes cubanos con esquizofrenia

Zoe Robaina-Jiménez¹, Giovanna Contreras-Roura¹, Enny Morales-Rodríguez¹, Beatriz Marcheco-Teruel¹, Gissell Monzón-Benítez¹, Antonio Caballero², Danys de las Nieves-Milián², Gina Galan², Yasmany Llanes², Jaime Valenti², Lilia. C Marín-Padrón¹, Evelyn Fuentes-Smith¹, Rafael Ventura¹, Gretel Riverón-Forment¹, Ole Mors³

¹ Centro Nacional de Genética Médica de Cuba. Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Centro colaborador de la OPS/OMS. ² Hospital Psiquiátrico de La Habana. ³ Translational Neuropsychiatry Unit, Department of Clinical Medicine, Aarhus University, Aarhus, Denmark

RESUMEN

Introducción. La esquizofrenia es un trastorno psiquiátrico muy heterogéneo, que afecta el 1 % de la población mundial. Se ha descrito que en la patofisiología de esta enfermedad pueden estar implicados varios sistemas de neurotransmisores, como el serotoninérgico. La síntesis de la serotonina depende de la disponibilidad de triptófano.

Objetivo. Determinar las concentraciones plasmáticas de triptófano en pacientes con esquizofrenia.

Materiales y Métodos. Se realizó un estudio descriptivo de tipo transversal. La muestra estuvo conformada por 400 pacientes atendidos en el Hospital Psiquiátrico de La Habana con diagnóstico clínico de esquizofrenia. Para realizar la evaluación psicopatológica de los pacientes se aplicó el cuestionario de evaluación clínica en neuropsiquiatría (SCAN). Se utilizó como población de referencia un grupo conformado por 157 individuos de ambos sexos, aparentemente sanos. Los niveles de triptófano en plasma fueron cuantificados mediante HPLC.

Resultados. Se apreció una disminución significativa en las concentraciones de triptófano

($p=0,0001$) atendiendo al sexo; las personas del sexo femenino presentaron los valores más bajos del triptófano en comparación con los valores de referencia. Se observó que los pacientes con concentraciones de triptófano inferiores a $370 \mu\text{M}$ presentaban los grados más severos de las variables clínicas evaluadas mediante el SCAN, relacionadas con los síntomas negativos: anomalías esquizofreniformes del lenguaje (64.3%) y síndrome negativo (61.8%).

Conclusión. Los pacientes con esquizofrenia con bajas concentraciones de triptófano podrían presentar alteraciones en el sistema serotoninérgico, lo cual podría explicar la severidad observada en relación con los síntomas negativos de la enfermedad y serían candidatos para la búsqueda de genes relacionados con la vía de la serotonina. De acuerdo con estos hallazgos, se recomienda que la medición de las concentraciones de triptófano debiera ser un aspecto para tener en cuenta en la selección de la terapia por utilizar en esta enfermedad.

Palabras claves: triptófano, serotonina, esquizofrenia, hipótesis serotoninérgica, síntomas

Autor para correspondencia: Dra. Zoe Robaina Jiménez, Centro Nacional de Genética Médica. Universidad de Ciencias Médicas, Ave 146 esquina 31 #3102. Playa, La Habana, Cuba. **E-mail:** zoerobaina@infomed.sld.cu

Recibido: el 6 de mayo de 2014. **Aceptado para publicación:** el 2 de septiembre de 2014

Este documento está disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb142532.pdf>

negativos, metabolitos

ABSTRACT

Plasma levels of tryptophan in Cuban patients with schizophrenia

Introduction. Schizophrenia is a heterogeneous psychiatric disorder that affects 1% of the world's population. The pathophysiology of this disease has been reported to be involved with several neurotransmitter systems, such as serotonin. Because serotonin synthesis depends on the availability of tryptophan, we studied plasma tryptophan levels in Cuban patients with schizophrenia.

Objective. To determine plasma concentrations of tryptophan in patients with schizophrenia.

Materials and Methods. A descriptive cross-sectional study was performed. The sample consisted of 400 patients treated at the Psychiatric Hospital of Havana with clinical diagnoses of schizophrenia. Patient's psychopathological assessment were completed using Schedules for Clinical Assessment in Neuropsychiatry (SCAN) protocols. The reference population group comprised 157 apparently healthy individuals of both sexes. Plasma tryptophan levels were quantified by HPLC.

Results. A significant decrease in plasma tryptophan concentrations ($p = 0,0001$) were observed as related to the sex of the patient, with the female patients presenting the lowest values of tryptophan compared to reference values. It was observed that patients with concentrations below $370 \mu\text{M}$ tryptophan, had the most severe degrees of SCAN as evaluated by clinical variables related to negative symptoms with schizophreniform speech abnormalities (64.3%) and negative syndrome (61.8%).

Conclusion. Patients with schizophrenia with low concentrations of tryptophan may have alterations in their serotonergic systems, which could explain the severity observed in relation to the negative symptoms of the disease and could also point

to candidates in the search for genes associated with serotonin pathways. Based on these findings, it is recommended that the measurement of plasma tryptophan concentrations should be considered when selecting therapies for treating schizophrenia.

Key words: tryptophan, serotonin, schizophrenia, serotonergic hypothesis, negative symptoms, metabolite

INTRODUCCIÓN

La esquizofrenia es una enfermedad compleja, que afecta el 1% de la población mundial. Las manifestaciones clínicas de este trastorno pueden aparecer entre los 15 y los 25 años o por encima de los 50 años, pero raramente ocurren antes de la pubertad. En esta enfermedad heterogénea aparecen numerosas alteraciones biológicas, sobre las cuales pueden influir tanto factores genéticos como ambientales (1,2).

Entre las múltiples teorías propuestas para explicar la fisiopatología de esta enfermedad se encuentra la teoría serotoninérgica. Esta hipótesis plantea que las alteraciones en el sistema serotoninérgico, a nivel de la corteza cerebral, podrían ser una de las causas de la enfermedad (1-5).

La serotonina (5-HT) es un neurotransmisor ampliamente distribuido en el sistema nervioso central y es capaz de regular una gran variedad de neurotransmisores, como la dopamina. El metabolito precursor de la vía biosintética de esta amina biógena es el triptófano, por lo que la disponibilidad de 5-HT puede estar afectada por las concentraciones de este aminoácido esencial (6).

En la ruta metabólica de síntesis de la 5-HT, el paso limitante es la hidroxilación, la cual es mediada por la acción de la enzima triptófano hidroxilasa (Tph). Como resultado de esta reacción, se obtiene el 5-hidroxitriptófano (5-HTP), metabolito que recientemente se ha propuesto como eje central de la hipótesis del

Niveles de triptófano y esquizofrenia

5-HTP en la esquizofrenia (6). Teniendo en cuenta que el triptófano es el precursor de esta vía biosintética, resultaría de interés determinar las concentraciones plasmáticas de este aminoácido en pacientes con esquizofrenia, para determinar si existe una relación directa entre la presencia de síntomas de la esquizofrenia y la concentración plasmática del precursor de la 5-HT, lo que podría sugerir que la alteración en la neurotransmisión serotoninérgica es uno de los mecanismos implícitos en la aparición y/o desarrollo de la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo de tipo transversal. La muestra estuvo conformada por 400 pacientes (183 mujeres y 217 hombres), atendidos en el Hospital Psiquiátrico de La Habana, con diagnóstico clínico de esquizofrenia. A todos los pacientes se les aplicó el cuestionario de evaluación clínica en neuropsiquiatría (*SCAN*, por sus siglas en inglés) como instrumento para el sistema de evaluación psicopatológica, el cual está validado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (7). En este cuestionario se abarca la edad de comienzo, la sintomatología, el curso de la enfermedad, la duración de los episodios psicóticos y diferentes variables clínicas relacionadas con la enfermedad.

El fenotipo clínico se exploró a través de 5 variables clínicas relacionadas con los síntomas negativos presentes en la enfermedad: síndrome negativo, observación de conducta, apariencia extraña o inapropiada, anormalidades esquizofreniformes del lenguaje y afecto esquizofreniforme. El *SCAN* permitió, a través de una escala de puntuación predeterminada de 4 valores (0: no hay síntomas presentes; 1: síntomas presentes pero con poca interferencia en las actividades de la vida diaria; 2: interferencia moderada o intermitente; 3: interferencia severa o incapacitante), evaluar la severidad de las variables clínicas anteriores.

Por otra parte, teniendo en cuenta el

carácter multifactorial de este trastorno, se exploró la presencia de trastorno mental en los familiares de los casos. A partir de la información referida, se conformaron los árboles genealógicos hasta tres generaciones, para lo cual se utilizó el programa Cyrillic.

La población de referencia estuvo conformada por 157 individuos (mayores de 12 años) y de ambos sexos (69 mujeres y 82 hombres); se verificó que estos no tuvieran antecedentes personales o familiares de enfermedades mentales o alteraciones metabólicas que pudiesen alterar los niveles de triptófano.

Todos los participantes fueron incluidos luego de emitir voluntariamente el consentimiento. En el caso de los pacientes, este fue emitido por parte del tutor legal, siguiendo los principios éticos de la Declaración de Helsinki de 1975, modificada en 2013; además, se revisó el protocolo de investigación por el comité de ética médica del Centro Nacional de Genética Médica.

En este estudio, se utilizó como muestra biológica sangre venosa sistémica. La extracción se realizó en ayunas, mediante punción venosa en el Hospital Psiquiátrico de La Habana, posterior a la aplicación del cuestionario *SCAN*. Para la determinación del triptófano, se extrajeron 4 ml de sangre en un tubo con EDTA como anticoagulante. El plasma se separó por centrifugación (2500 rpm durante 15 minutos a 4°C).

Cuantificación de triptófano en plasma por HPLC

Pretratamiento de las muestras. Las muestras de plasma se desproteinizaron empleando ácido tricloroacético al 10% (v/v), fueron homogeneizadas y se centrifugaron a 9 300 g durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido fue transferido a un vial eppendorf de 1.5 mL, para su posterior análisis.

Condiciones cromatográficas. Para la cuantificación de triptófano en plasma, se empleó la técnica de HPLC descrita por Zhaoa y col.

Robaina-Jiménez *et al.*

en 2011 (8). Este es un método isocrático, que emplea fase reversa, con detección directa por fluorescencia (excitación 280 nm y emisión 348 nm). Todas las determinaciones se realizaron a 30°C empleando precolumna GHRS-ODS 4 mm x 1 cm y columna CLC-ODS 15 cm, 5 µm (Shimadzu, Japón). La fase móvil consistió en metanol al 20% ajustado a pH 4 con ácido acético glacial; el volumen de inyección 3 µL y el flujo de 1 mL/min.

Análisis estadístico. Para el análisis de las variables, se calcularon las frecuencias absolutas y las relativas. Como medida de resumen se utilizó el porcentaje. Se realizó la prueba Kolmogorov-Smirnov para comprobar la normalidad de los datos, la prueba de T-Student para muestras independientes y la prueba de Chi-cuadrada para la asociación de variables cualitativas; todos los análisis se realizaron con nivel de significación $\alpha=0,05$. El software utilizado fue el *Statistica* 7.0. Se calculó el coeficiente de correlación de Pearson y la correlación parcial ajustando para sexo y antecedente patológico familiar, con nivel de significación 0.05.

RESULTADOS

Se apreció una disminución significativa en las concentraciones de triptófano ($p=0,0001$) atendiendo al sexo; los pacientes del sexo femenino presentaron los valores más bajos de

triptófano en comparación con los valores de referencia (**Cuadro 1**). Tomando como punto de corte el valor mínimo del intervalo de referencia en los sujetos aparentemente sanos, se estableció la categoría de “bajos” para aquellos pacientes con niveles de triptófano inferiores a 370 µM. Del total de pacientes estudiados, 95 de ellos (50 mujeres y 45 hombres) presentaban niveles de triptófano categorizados como bajos, lo que representa un 23.7% de la muestra analizada. Se constató que el 34.7 % de los casos con estos bajos niveles de triptófano refirieron historia familiar de trastornos mentales, lo cual significa que tenían, al menos, un familiar de primer grado afectado.

Como se observa en el **Cuadro 2**, de los 95 pacientes con concentraciones de triptófano inferiores a 370 µM, un alto porcentaje presentaban los grados más severos de las variables clínicas evaluadas mediante el SCAN, relacionadas con los síntomas negativos: anormalidades esquizofreniformes del lenguaje (64.3%) y síndrome negativo (61.8%).

DISCUSIÓN

Varios estudios han demostrado que la concentración de serotonina en el cerebro es directamente proporcional a la concentración plasmática y cerebral de triptófano (6,9). Las alteraciones en el metabolismo del triptófano, su relación con los efectos sobre el desarrollo

Cuadro 1
Concentraciones plasmáticas de triptófano en pacientes esquizofrénicos y en la población de referencia, atendiendo al sexo

Concentraciones plasmáticas de triptófano (µM)			
	Pacientes	Controles	p
Femeninos	465 (105-985)	598 (370-905)	0,0001
Masculinos	521(176-1020)	669 (415-945)	$p>0,05$

* Los valores son expresados en media (mínimo y máximo)

Cuadro 2
Comportamiento de las variables clínicas relacionadas con los síntomas negativos en los pacientes (n=95) con niveles bajos de triptófano atendiendo a la gravedad

Gravedad	Anormalidades esquizofreniformes del lenguaje	Síndrome negativo	A f e c t o esquizofreniforme
Moderada	35.7	35.7	70.3
Severa	64.3	61.6	29.6

* Los valores se expresan en porcentajes

Niveles de triptófano y esquizofrenia

cerebral y su vinculación con los trastornos psiquiátricos han sido motivo de investigaciones precedentes, debido a que la disponibilidad de triptófano es el principal factor limitante de la síntesis de 5-HT (6,9).

En el presente estudio, los pacientes del sexo femenino mostraron los valores más bajos de triptófano en plasma. Estos resultados concuerdan con los obtenidos previamente por otros autores, los que reportan la disminución de las concentraciones séricas de triptófano en pacientes con esquizofrenia (10,11). Como todos los pacientes incluidos en la investigación comparten igual ambiente, ya que reciben cuidados de salud mental en unidades de hospitalización, lo que conlleva igual alimentación, similares situaciones de estrés, condiciones de vida, así como el hábito de fumar (el 80 % de los pacientes son fumadores), estas variables no deben sesgar el resultado, ya que tendrían un efecto equivalente sobre la muestra estudiada. Por lo que estas diferencias en cuanto al género podrían explicarse por las características fisiológicas presentes en las mujeres. En este sentido, se ha descrito que, en las mujeres, los esteroides sexuales parecen afectar el sistema serotoninérgico, así como las fluctuaciones en los niveles de las hormonas ováricas durante el ciclo menstrual. Un estudio reciente de tomografía por emisión de positrones (PET), en cinco mujeres sanas, reportó mayor cantidad de receptores para serotonina (5-HT_{1A}) en el rafe dorsal en la fase folicular en comparación con la fase lútea. Otros estudios refieren un aumento de los receptores 5-HT_{2A} en mujeres posmenopáusicas después del tratamiento con estradiol y progesterona (12-16).

La presencia de niveles bajos de triptófano podría alterar las concentraciones de 5-HT en las pacientes con esquizofrenia. Teniendo en cuenta que se trata de un aminoácido esencial, su reducción en el plasma traería como resultado una disminución en su transporte a partir del plasma al cerebro y, por tanto, repercutir en los niveles de 5-HT a este nivel. La relación que existe entre

dos metabolitos se ha comprobado a través de la técnica dietética denominada depleción aguda del triptófano (ATD), la cual se emplea para manipular la función de la 5-HT en el cerebro. Aumentando o disminuyendo la disponibilidad del triptófano se logra provocar alteraciones en la cantidad de serotonina producida (17-19). Otros estudios realizados en pacientes con depresión y otros trastornos afectivos han demostrado que la depleción aguda del triptófano (ATD) permite una mayor comprensión de la participación de la serotonina en la etiología y para el tratamiento de estos trastornos (19).

Existen suficientes evidencias científicas que demuestran un riesgo elevado para la esquizofrenia en los familiares de primer grado de los esquizofrénicos en comparación con la población general, lo que sugiere un carácter familiar de la enfermedad. Los estudios con familias permiten separar los subgrupos etiológicamente homogéneos en la esquizofrenia, ayudan a eliminar los subgrupos de causa no genética y pueden esclarecer los factores etiológicos que contribuyen a la expresión fenotípica de la enfermedad (20-22).

Después de que se diagnostica la esquizofrenia a una persona, las probabilidades de que un hermano padezca esquizofrenia son del 7 al 8 por ciento. Si uno de los padres tiene esquizofrenia, las probabilidades de que el hijo tenga el trastorno son del 10 al 15 por ciento. Los riesgos aumentan en el caso de las familias con múltiples miembros afectados por la condición. Es conocido que la historia familiar es uno de los factores de riesgo mejor establecido. Los factores ambientales, como complicaciones obstétricas durante el nacimiento, infección por influenza en madres embarazadas y clase social baja, entre otros, también forman parte de estos factores de riesgo para contraer la enfermedad (20-22).

Existen pacientes con una alta prevalencia familiar y otros sin antecedentes familiares que aparecen espontáneamente. Múltiples estudios han intentado establecer diferencias clínicas

entre estos dos grupos, llegando a resultados poco concluyentes; de manera que la forma de presentación clínica no ha permitido, hasta la actualidad, diferenciar la esquizofrenia familiar de la esporádica (20-22). En el presente estudio, se constató que solo el 34.7 % de los casos con estos bajos niveles de triptófano refirieron historia familiar de trastornos mentales, lo cual sugiere que estos casos serían los posibles candidatos para realizar estudios moleculares relacionados con el gen de la TPH y para ampliar el estudio de la vía serotoninérgica como posible causa de la enfermedad.

A pesar de mostrar agregación familiar, la mayor parte de los casos de esquizofrenia en la población general son esporádicos, es decir, no tienen un familiar de primero, segundo o tercer grado afectado. La aparente dicotomía entre el número de casos esporádicos y con historia familiar de afectados se explica porque en una enfermedad que tiene una prevalencia poblacional del 1% y una heredabilidad de entre el 60 y el 80%, como es el caso, hay una probabilidad de aparición de casos esporádicos mayor del 60% (23).

El estudio de los síntomas puede hipotetizar el comportamiento funcional, así como sugiere la búsqueda de marcadores biológicos de rasgo más cercanos a la vulnerabilidad genética, los endofenotipos de la esquizofrenia (24). Con el objetivo de reducir la heterogeneidad clínica y etiopatogénica, se utilizó esta estrategia de investigación que se centra en el estudio de un conjunto de síntomas clínicos relacionados con los síntomas negativos elegidos, en lugar de los criterios nosológicos convencionales que caracterizan biológicamente la esquizofrenia (7).

Los síntomas negativos son síntomas frecuentes en la esquizofrenia; casi el 60% de los pacientes en tratamiento presenta, al menos, un síntoma negativo y el 18% presenta los 3 síntomas negativos evaluados, la asocialidad, el aplanamiento afectivo y la alogia (PANSS, de sus siglas en inglés); además, entre el 15 y el

30% de las personas con esquizofrenia presentan síntomas negativos de tal magnitud y persistencia que pueden ser diagnosticadas de síndrome deficitario. Estos síntomas están presentes ya en el inicio de la enfermedad, incluso, antes de los síntomas positivos; carecen de instrumentos de evaluación apropiados, de tratamientos eficaces y, en conjunto con los cognitivos, producen el mayor impacto sobre el funcionamiento, los hábitos de vida y la salud somática de las personas que los padecen (25). Numerosos estudios han demostrado una correlación positiva entre la gravedad de los síntomas negativos y el deterioro en el funcionamiento ocupacional, familiar y social de los pacientes (25,26). Es decir, estos síntomas serían los responsables en gran medida de la afuncionalidad precoz que caracteriza a la esquizofrenia. Por ello, resulta inverosímil que, si bien el deterioro en el funcionamiento social, familiar y laboral es un criterio obligado para el diagnóstico de la esquizofrenia, los síntomas negativos presenten tan poco peso para su diagnóstico en las clasificaciones diagnósticas universales (CIE y DSM). Aunque las pautas diagnósticas del DSM han servido para estandarizar el diagnóstico de las enfermedades mentales severas, la definición de afectado depende aún exclusivamente de la presencia de un listado de manifestaciones clínicas según el criterio de un especialista. La dificultad para llegar a un diagnóstico también se complica por la heterogeneidad clínica observada entre los pacientes y en el mismo paciente durante el transcurso de su enfermedad (25-28).

Las enfermedades con alta prevalencia en la población general son etiológicamente heterogéneas. Se presume que diferentes grupos de personas con esquizofrenia van a presentar diferentes combinaciones de genes mutados y factores ambientales, lo que puede explicar que algunos resultados no se repliquen al estudiar diferentes poblaciones. Una solución propuesta para los estudios de mapeo en enfermedades complejas es el uso de endofenotipos o fenotipos

Niveles de triptófano y esquizofrenia

intermedios. En particular, para la esquizofrenia, se han estudiado como posibles endofenotipos las características bioquímicas, neurofisiológicas, neuroimagenológicas y neurocognitivas, entre otras (29-31).

Los resultados derivados del presente estudio reflejan que podría existir cierta relación entre el parámetro bioquímico estudiado y las variables clínicas relacionadas con los síntomas negativos. Teniendo en cuenta esta posible relación, se podría valorar si los niveles de triptófano podrían comportarse como endofenotipo, aspecto que podría encauzarse en investigaciones futuras. Un reto añadido en futuras investigaciones para la comprensión de estos síntomas reside en la dificultad para desarrollar modelos clínicos, basados en nuevos biomarcadores y modelos animales válidos que nos ayuden a identificar el sustrato neurobiológico y a descubrir nuevas dianas terapéuticas.

La presente investigación refleja que el metabolito estudiado pudiera ser más relevante en mujeres que en hombres y que, en determinado porcentaje de los pacientes estudiados, pudiera estar determinado por factores genéticos relacionados con la vía de la serotonina. Además, se aprecia una relación más directa con algunas características clínicas que con la enfermedad en su totalidad; por lo que el estudio de las variables clínicas relacionadas con los síntomas negativos constituye una propuesta para profundizar en la hipótesis serotoninérgica, así como valorar si los niveles séricos de triptófano podrían clasificarse como un endofenotipo.

Es importante destacar que en la esquizofrenia, donde la etiología es compleja, cerca de un tercio de los casos muestran valores bajos de triptófano; lo que refleja la relevancia de la hipótesis de la participación del sistema serotoninérgico en dicha enfermedad, así como la interacción con otros sistemas. Debido a las diferencias que presentan los valores de triptófano atendiendo al sexo, se sugiere la evaluación de

esta variable en hombres y mujeres por separado.

Podría recomendarse, para futuros estudios, evaluar la cuantificación del triptófano en pacientes con esquizofrenia, ya que podría influir en la selección de la terapia para utilizar en esta enfermedad y aquellos en los que se evidenciara valores bajos de triptófano serían candidatos para la búsqueda de genes relacionados con la vía de la serotonina.

REFERENCIAS

1. **Gejman P, Sanders A.** La etiología de la esquizofrenia. *Medicina (B Aires)* 2012;72(3):227-34.
2. **Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC.** Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiatry* 2003 Dec;60(12):1187-92.
3. **Machado A, Luiz A.** La disolución de la paradoja etiológica de la esquizofrenia. *Alcmeon* 2009;15:196-209.
4. **Fatemi SH, Folsom TD.** The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia, revisited. *Schizophr Bull* 2009 May;35(3):528-48.
5. **Saiz-Ruiz J, de la Vega-Sánchez DC, Sánchez-Páez.** Bases Neurobiológicas de la Esquizofrenia. *Clin Salud* 2010;21(3):235-54.
6. **Fukuda K.** 5-HTP hypothesis of schizophrenia. *Med Hypotheses* 2014 Jan;82(1):20-3.
7. **World Health Organization, SCAN:** Schedules for Clinical Assessment in Neuropsychiatry Version 2.1 Geneva, Switzerland Psychiatric Publishers International/American Psychiatric Press Inc1994-1997.
8. **Zhao J, Chen H, Ni P, Xu B, Luo X, Zhan Y, et al.** Simultaneous determination of urinary tryptophan, tryptophan-related metabolites and creatinine by high performance liquid chromatography with ultraviolet and fluorimetric detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2011 Sep 15;879(26):2720-5.
9. **Yao JK, Dougherty GG Jr, Reddy RD, Keshavan MS, Montrose DM, Matson WR, et al.** Altered interactions of tryptophan metabolites in first episode neuroleptic-naive patients with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2010 Sep;15(9):938-53.
10. **Freedman DX, Belendiuk K, Belendiuk GW, Crayton JW.** Blood Tryptophan Metabolism in Chronic Schizophrenics. *Arch Gen Psychiatry* 1981 Jun;38(6):655-9.
11. **Manowitz P, Gilmour DG, Racevskis J.** Low

Robaina-Jiménez et al.

- plasma tryptophan levels in recently hospitalized schizophrenics. *Biol Psychiatry* 1973 Apr;6(2):109-18.
12. **Jovanovic H, Lundberg J, Karlsson P, Cerin A, Saijo T, Varrone A, et al.** Sex differences in the serotonin 1A receptor and serotonin transporter binding in the human brain measured by PET. *Neuroimage* 2008 Feb 1;39(3):1408-19.
 13. **Parsey RV, Oquendo MA, Simpson NR, Ogden RT, Van Heertum R, Arango V, et al.** Effects of sex, age, and aggressive traits in man on brain serotonin 5-HT1A receptor binding potential measured by PET using [C-11] WAY-100635. *Brain Res* 2002 Nov 8;954(2):173-82.
 14. **Versijpt J, Van Laere KJ, Dumont F, Decoo D, Vandecapelle M, Santens P, et al.** Imaging of the 5-HT2A system: age-, gender-, and Alzheimer's disease-related findings. *Neurobiol Aging* 2003 Jul-Aug;24(4):553-61.
 15. **Moses-Kolko EL, Berga SL, Greer PJ, Smith G, Cidis Meltzer C, Drevets WC.** Widespread increases of cortical serotonin type 2A receptor availability after hormone therapy in euthymic postmenopausal women. *Fertil Steril* 2003 Sep;80(3):554-9.
 16. **Kugaya A, Epperson CN, Zoghbi S, van Dyck CH, Hou Y, Fujita M, et al.** Increase in prefrontal cortex serotonin 2A receptors following estrogen treatment in postmenopausal women. *Am J Psychiatry* 2003 Aug;160(8):1522-4.
 17. **Moore P, Landolt HP, Seifritz E, Clark C, Bhatti T, Kelsoe J, et al.** Clinical and Physiological Consequences of Rapid Tryptophan Depletion. *Neuropsychopharmacology* 2000 Dec;23(6):601-22.
 18. **Crockett MJ, Clark L, Roiser JP, Robinson OJ, Cools R, Chase HW, et al.** Converging evidence for central 5-HT effects in acute tryptophan depletion. *Mol Psychiatry* 2012 Feb;17(2):121-3.
 19. **Neumeister A.** Tryptophan depletion, serotonin, and depression: where do we stand?. *Psychopharmacol Bull* 2003;37(4):99-115.
 20. **Williams HJ, Owen MJ, O'Donovan MC.** New findings from genetic association studies of schizophrenia. *J Hum Genet* 2009 Jan;54(1):9-14.
 21. **Mortensen PB, Pedersen CB, Westergaard T, Wohlfahrt J, Ewald H, Mors O, et al.** Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. *N Engl J Med* 1999 Feb 25;340(8):603-8.
 22. **Parra I, Crivillés S, Acebillo S, Soto E, Santos J, Peláez T, et al.** Esquizofrenia familiar y esporádica: un estudio clínico comparativo. *Rev Psiquiatría Fac Med Barna* 2005;32(4):174-8.
 23. **Yang J, Visscher PM, Wray NR.** Sporadic cases are the norm for complex disease. *Eur J Hum Genet* 2010 Sep;18(9):1039-43.
 24. **Gottesman II, Gould TD.** The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry*. 2003 Apr;160(4):636-45.
 25. **Haller CS, Padmanabhan JL, Lizano P, Torous J, Keshavan M.** Recent advances in understanding schizophrenia. *F1000Prime Rep* 2014 Jul;8(6):57.
 26. **Cornblatt BA, Carrión RE, Addington J, Seidman L, Walker EF, Cannon TD, et al.** Risk factors for psychosis: impaired social and role functioning. *Schizophr Bull*. 2012 Nov;38(6):1247-57.
 27. **García-Portilla MP, Bobes J.** The new challenge in identifying the negative syndrome of schizophrenia. *Rev Psiquiatr Salud Ment* 2013 Oct-Dec;6(4):141-3.
 28. **Bobes J, Arango C, García-García M, Rejas J; CLAMORS Study Collaborative Group.** Prevalence of negative symptoms in outpatients with schizophrenia spectrum disorders treated with antipsychotics in routine clinical practice: findings from the CLAMORS study. *J Clin Psychiatry* 2010 Mar;71(3):280-6.
 29. **Stanghellini G, Rossi R.** Pheno-phenotypes: a holistic approach to the psychopathology of schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 2014 May;27(3):236-41.
 30. **Kaluzyńska O, Rabe-Jabłońska J.** Neurological soft signs as a candidate for endophenotype of schizophrenia. *Psychiatr Pol* 2014 Jan-Feb;48(1):5-18.
 31. **Glahn DC, Knowles EE, McKay DR, Sprooten E, Raventós H, Blangero J, et al.** Arguments for the sake of endophenotypes: examining common misconceptions about the use of endophenotypes in psychiatric genetics. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2014 Mar;165B(2):122-30.